

Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets



(11) **EP 1 602 930 A2**

(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(43) Veröffentlichungstag:  
07.12.2005 Patentblatt 2005/49

(51) Int Cl.7: **G01N 33/574, G01N 33/566**

(21) Anmeldenummer: **04090322.1**

(22) Anmeldetag: **20.08.2004**

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
**AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR  
HU IE IT LI LU MC NL PL PT RO SE SI SK TR**  
Benannte Erstreckungsstaaten:  
**AL HR LT LV MK**

(30) Priorität: **22.08.2003 DE 10339820**

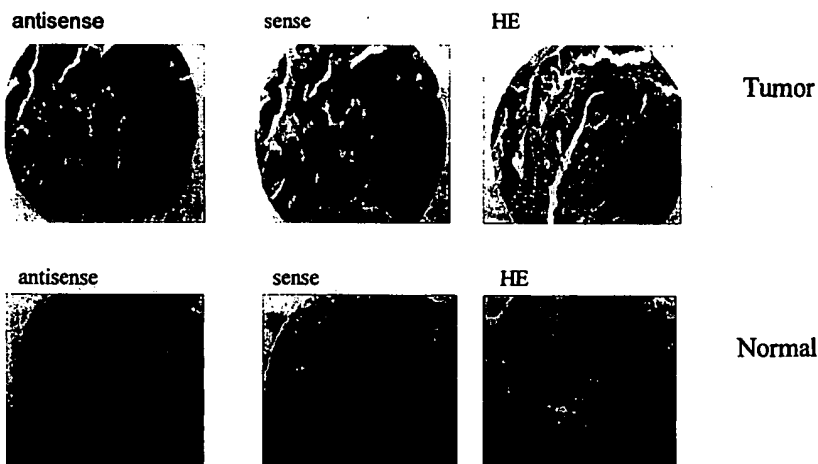
(71) Anmelder:  
• **Hinzmann, Bernd, Dr.**  
13127 Berlin (DE)  
• **Stein, Dr., Anke**  
14974 Ludwigsfelde (DE)  
• **Staub, Dr., Eike**  
13189 Berlin (DE)  
• **Heiden, Esmeralda, Dr.**  
10589 Berlin (DE)  
• **Klaman, Dr., Irina**  
10318 Berlin (DE)

• **Dahl, Dr., Edgar**  
4851 Gemmenich (BE)  
(72) Erfinder:  
• **Stein, Anke**  
14974 Ludwigsfelde (DE)  
• **Staub, Eike**  
13189 Berlin (DE)  
• **Weber, Birgit, Dr.**  
81927 München (DE)  
• **Heiden, Esmeralda, Dr.**  
10589 Berlin (DE)  
• **Klaman, Irina**  
10318 Berlin (DE)  
• **Dahl, Edgar Institut für Pathologie Uni-Klinikum**  
52074 Aachen (DE)  
• **Hinzmann, Bernd**  
13127 Berlin (DE)

(54) **Verwendungen von an GPR49 bindenden Substanzen zur Diagnose und Behandlung von Krebs**

(57) Die Erfindung betrifft Verwendungen von GPR49 zur Diagnose und Behandlung von Krebs, insbesondere des Colon-, Uterus- und/oder Rectumkarzinoms, sowie zum Screenen nach Substanzen für solche Zwecke.

***in situ* Hybridisierung (10x) Colon**



**Figur 20**

**EP 1 602 930 A2**

**Beschreibung****Gebiet der Erfindung**

- 5 **[0001]** Die Erfindung betrifft neue Verwendungen von GPR49 oder daraus abgeleiteten Sequenzen zum Screenen nach daran bindenden Substanzen, sowie die Verwendung von an GPR49 bindenden Substanzen zur Diagnose und/oder Behandlung von Krebs.

**Hintergrund der Erfindung und Stand der Technik**

- 10 **[0002]** GPR49, auch als LGR5 oder HG38 bezeichnet, wurde ursprünglich als ein "orphan" G-Protein gekoppelter 7 transmembraner Rezeptor isoliert. Obwohl der GPR49 spezifische Ligand noch nicht identifiziert werden konnte, lassen Sequenzanalysen auf eine Zugehörigkeit zur Glycoprotein Hormone Rezeptor Familie schließen. Merkmal dieser Subfamilie ist eine große N-terminale Ektodomäne. Die sich wiederholenden LRR Motive werden für die Liganden-  
 15 denerkennung verantwortlich gemacht. Die 17 LRR in GPR49, verglichen mit den 9 der anderen Familienmitglieder, lassen ein noch größeres Glycoprotein als TSH, FSH oder LH als Liganden vermuten.

- [0003]** Die C-terminale Endodomäne ist im Cytoplasma lokalisiert und weist sowohl potentielle Phosphorylierungsstellen als auch mögliche Erkennungssequenzen für Proteine mit SH2 und SH3 Domänen auf. Diese sind möglicherweise an einer Verbindung zu einer von G-Proteinen verschiedenen Signaltransduktion beteiligt (Heu et al. 1998, Molecular Endocrinology 12(12):1830-1845; McDonald et al. 1998, Biochem. & Biophys. Research Communications 247:266-270).

- [0004]** In der Literaturstelle WO99/15660 wird nicht nur die Klonierung der cDNA aus humaner Placenta mRNA beschrieben, sondern auch die Verteilung der mRNA in normalem Gewebe über Multiple Tissue Northern Hybridisierung. Ein deutlicher Nachweis erfolgte für Placenta, Skelettmuskelgewebe und spezielle Subtypen des Gehirns, insbesondere Corpus callosum.

- [0005]** Yamamoto et al. (Hepatology 37(3):528-533 (2003)) konnten eine Hochregulierung der GPR49 mRNA in Lebergeweben in Zusammenhang mit mutiertem  $\beta$ -Catenin stellen.  $\beta$ -Catenin ist sowohl an Cadherin-vermittelter Zell-Zell-Adhäsion als auch an der Wnt-Signalkaskade beteiligt. Die Autoren schliessen auf eine Genaktivierung von GPR49 durch die Wnt-Signalkaskade und sprechen von einem möglichen Potential als therapeutisches Target in der  
 30 Behandlung von Leberzell-Karzinoma.

- [0006]** Krebs ist eine meist letal verlaufende Erkrankung mit zunehmender Inzidenz. Daher ist es wünschenswert, verbesserte Ansätze zur Diagnose und Therapie von Krebserkrankungen zur Verfügung zu stellen.

**Technisches Problem der Erfindung**

- 35 **[0007]** Der Erfindung liegt daher das technische Problem zugrunde, pharmazeutische Zusammensetzungen zur Diagnose, auch zur Verlaufs- bzw. Progressionsprognose, und/oder zur Behandlung von Krebs, insbesondere von Colon-, Uterus- und/oder Rectumtumoren, anzugeben sowie Mittel zu deren Identifizierung.

- [0008]** Grundzüge der Erfindung und bevorzugte Ausführungsformen.

- 40 **[0009]** Zur Lösung dieses technischen Problems lehrt die Verwendung einer für GPR49 codierenden Nukleinsäure und/oder eines GPR49 Peptids oder Proteins zur Detektion von Krebs, insbesondere von Colon-, Uterus- und/oder Rectumtumoren oder zur Detektion eines Risikos der Erkrankung an einem solchen Karzinom oder zur Detektion eines Risikos einer Progression eines solchen Karzinoms, wobei eine Gewebeprobe, insbesondere eine Colon-, Uterus und/oder Rectum-Gewebeprobe, auf Transkription oder Übertranskription von GPR49 RNA oder auf Expression oder Überexpression eines GPR49 Proteins untersucht wird. Eine an für GPR49 codierende Nukleinsäure oder eine an GPR49 Protein oder Peptid bindende Detektorsubstanz, vorzugsweise enthaltend eine Reportergruppe, kann verwendet werden, wobei Bindung besagter Nukleinsäure und/oder besagten Proteins oder Peptids an die Detektorsubstanz halbquantitativ oder quantitativ detektiert wird. In diesem Zusammenhang lehrt die Erfindung weiterhin ein Testsystem zur  
 45 (in vitro) Detektion eines vorstehend genannten Karzinoms oder eines Risikos der Erkrankung hieran oder der Progressionsprognose, enthaltend Mittel zur quantitativen Messung der Expression von GPR49 in Gewebeproben, wobei diese Mittel beispielsweise Mittel zur Amplifikation und spezifischen Detektion von GPR49 RNA und/oder eine Detektorsubstanz, insbesondere spezifisch für GPR49 Protein, sein können.

- [0010]** Die Erfindung lehrt weiterhin die Verwendung einer GPR49 RNA oder eines GPR49 Proteins oder Peptids zum Screenen nach daran bindenden Substanzen, insbesondere prospektiven Wirkstoffen zur Modulierung, insbesondere Inhibierung, von besagter RNA oder besagtem Protein oder Peptid, oder prospektiven Detektorsubstanzen, wobei eine prospektive Substanz oder eine Mischung solcher prospektiver Substanzen mit besagter RNA oder besagtem Protein oder Peptid kontaktiert wird, wobei mit einem Bindungsassay Bindungsereignisse festgestellt werden, und wobei eine bindende prospektive Substanz, ggf. nach Dekonvolutionierung, selektiert wird. In diesen Zusammenhängen  
 55

lehrt die Erfindung weiterhin ein Screeningsystem zur Ermittlung von für die Behandlung von vorstehenden Tumorerkrankungen geeigneten Wirksubstanzen enthaltend eine GPR49 Nukleinsäure oder ein GPR49 Protein bzw. Peptid, Mittel zur Bestimmung von (in vitro) Bindungsereignissen an die GPR49 Nukleinsäure oder an das GPR49 Protein bzw. Peptid, und/oder Mittel zur Bestimmung der (in vitro) Aktivität von GPR49 Protein. Hierbei kann GPR49 in einem zellfreien oder einem zellbasierten System, letzteres insbesondere aufweisend Zellen aus vorstehend genannten Geweben bzw. eine hieraus entwickelte Zelllinie, vorliegen. Mittel zur Bestimmung von Bindungsereignissen können beispielsweise natürlicherweise in normalen oder in Tumorzellen z.B. an GPR49 Protein bindende Substanzen bzw. Assoziationspartner umfassen, wobei über deren (freie) Konzentration bzw. Konzentrationsänderung bei Zugabe prospektiver Wirksubstanzen und/oder Detektorsubstanzen eine kompetitive Bindung einer bindenden Wirk- oder Detektorsubstanz bestimmt wird. Solche Mittel können aber auch physikalische bzw. physikalisch-chemische Methoden umfassen, wie beispielsweise Röntgenstrukturanalyse und/oder NMR, insbesondere zweidimensionale  $1H/1H$  oder  $15N/1H$  oder  $14C/1H$  Korrelationsspektroskopie. Hierbei werden Spektren vor und nach der Zugabe einer prospektiven Wirk- oder Detektorsubstanz miteinander verglichen und im Falle von Änderungen ist ein Bindungsereignis festgestellt. Es kann mit Spektren oder dergleichen entweder von GPR49 oder der prospektiven Substanz oder mit einer Kombination aus beidem gearbeitet werden. Selbstverständlich sind auch alle anderen fachüblichen Methoden der Bestimmung von Bindungsereignissen und/oder Proteinaktivitäten einsetzbar. Beispielsweise kann eine prospektive Substanz (oder mehrere Substanzen, räumlich voneinander getrennt) immobilisiert sein, wobei dann markiertes GPR49 aufgetragen wird. Ein Bindungsereignis wird dann nach Auftrag und folgender Spülung durch Detektion, ggf. örtlich aufgelöst, der Markierung gebundenen FABP4s festgestellt. Bindungsereignisse können auch ohne Markierung eines der Bindungspartner mittels der dem Fachmann geläufigen Biacore Technologie (Oberflächenplasmonen Resonanz) detektiert werden. Umgekehrt kann GPR49 immobilisiert sein und es wird eine markierte prospektive Substanz oder eine Mischung hieraus aufgetragen. Bindungsereignisse werden analog der vorstehenden Variante festgestellt.

**[0011]** Die Erfindung lehrt schließlich die Verwendung einer GPR49 inhibierenden oder daran bindenden Substanz zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung und/oder Diagnose von Krebs, insbesondere Colon-, Uterus- und/oder Rectumtumoren.

**[0012]** Die Substanz kann ein Antikörper sein, welcher durch Immunisierung eines nicht-menschlichen Säugetiers mit einem GPR49 Peptid oder Protein, mit hierfür codierender cDNA transfizierte Zellen, cDNA Immunisierung (Genovac), mit endogen ein solches Peptid oder Protein exprimierenden Tumorzellen, oder mit rekombinant hergestellten GPR49 Peptiden oder Proteinen, erhältlich ist, oder ein Phage-Display-Antikörper sein. Die Substanz kann aber auch eine Mimikryverbindung eines Antikörpers gegen ein GPR49 Peptid oder Protein sein. Die Substanz kann schließlich ein Aptamer, eine antisense RNA, ein Ribozym oder eine siRNA gegen GPR49 Nukleinsäuren sein. Die Substanz kann zusätzlich eine zytotoxische und/oder immunstimulierende Komponente tragen.

**[0013]** Bevorzugt ist es, wenn die vorstehenden, an GPR49 Protein bindenden Substanzen in der Verwendung zu therapeutischen Zwecken spezifisch an das GPR49 Protein binden und es in seiner biologischen Aktivität modulieren. Dies ist nicht erforderlich im Falle der Fusion bzw. Verbindung der Substanz mit einer zytotoxischen Komponente. Dies ist weiterhin nicht erforderlich, wenn die Substanz der Gewinnung eines anti-idiotypischen Antikörpers dient, welcher vom Immunsystem eines Patienten aufgrund seiner nicht-humanisierten Form als körperfremd erkannt wird und dem Immunsystem ansonsten ein GPR49-Antigen präsentiert.

**[0014]** Die pharmazeutische Zusammensetzung kann zur beliebigen Applikation, beispielsweise i.v. oder i.p. Injektion, hergerichtet sein. Eine Herrichtung zur lokalen Applikation in Tumorzellen enthaltendem Gewebe wird sich empfehlen im Falle des Einsatzes einer zytotoxischen Komponente.

**[0015]** Die Erfindung läßt sich im Rahmen eines Verfahrens zur Diagnose bzw. (Progressions-) Prognose einer Tumorerkrankung verwenden, wobei eine Detektorsubstanz in einer Ausführungsform mit einer Reportergruppe in zu untersuchendes Gewebe, ggf. in vitro nach Gewebeentnahme, appliziert wird, wobei das zu untersuchende Gewebe dann einer Detektionsverfahrenstufe unterworfen wird, welche sensitiv für die Reportergruppe ist, und wobei im Fall der Detektion eines definierten Mindestwertes der Reportergruppe im Gewebe das Gewebe als Tumorzellen enthaltend qualifiziert bzw. als progressionsgefährdet oder nicht progressionsgefährdet eingestuft wird, sowie eines Verfahrens zur Behandlung einer Krebserkrankung, wobei eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung in einer physiologisch wirksamen Dosis einem Patienten dargereicht wird. Im Falle der Diagnose bzw. Progressionsprognose kann zusätzlich oder alternativ eine Gewebeprobe mit einem erfindungsgemäßen Testsystem auf GPR49 Expression untersucht werden.

**[0016]** Die Erfindung beruht insbesondere auf der Erkenntnis, daß GPR49 in Colon-, Rectum- und/oder Uterusgeweben unterschiedlich exprimiert wird, i.e. in besagten Tumorgeweben ist die Expression im Falle solcher Karzinome höher, verglichen mit normalen Zellen gleichen Gewebes und der daraus herleitbaren technische Lehre, daß GPR49 als Zielmolekül bei der Diagnostik und Therapie bzw. Prophylaxe besagter Tumorerkrankungen eingesetzt werden kann. GPR49 kann also als spezifischer Marker zur Identifizierung von Tumorzellen in den besagten Tumorgeweben dienen. Es ist erkannt worden, dass pathologisch normale Zellen mit einer erhöhten Expression ein erhöhtes Risiko aufweisen, zu Krebszellen zu transformieren. Auf der anderen Seite bietet die Inhibierung von GPR49 die Möglichkeit,

in die Tumor-spezifischen GPR49 Assoziationen mit anderen Prozessen in den Tumorzellen einzugreifen und somit letztendlich den tumorzellenspezifisch veränderten Stoffwechsel zu stören und zu einem Absterben oder zumindest einer Wachstumshemmung der Tumorzellen, insbesondere aber einer Hemmung der Transformation zu Tumorzellen, beizutragen.

**[0017]** Im Rahmen der Erfindung kann es sich empfehlen, im Vorfeld einer Behandlung mit einer erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung eine Probe aus einem Gewebe, welches als Tumorgewebe mit anderen Methoden identifiziert ist, zu entnehmen und die Gewebeprobe auf Expression bzw. Überexpression von GPR49 zu untersuchen. Alternativ kann mit einer erfindungsgemäßen Detektorsubstanz zur Diagnose in vivo auf GPR49 Abhängigkeit getestet werden. Wird eine Expression bzw. Überexpression von GPR49 gegenüber Normalgewebe gleichen

Typs festgestellt, so ist die Anwendung der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung indiziert.

**[0018]** Generell ist es im Rahmen der Erfindung möglich, patientenspezifisch auf differentielle Expression zu untersuchen, wobei Normalgewebeprobe und Tumorgewebeprobe bzw. tumorverdächtige Gewebeprobe dem (gleichen) Patienten entnommen und vergleichend auf Werte der GPR49 Expression untersucht werden.

**[0019]** Handelt es sich bei dem Tumor um einem Typus, bei welchem Tumorzellen GPR49 exprimieren, Normalzellen gleichen Gewebetyps jedoch nicht, so ist es besonders bevorzugt, wenn die an GPR49 bindende Substanz zusätzlich eine zytotoxische und/oder immunstimulierende Komponente trägt. Dies führt dann letztendlich dazu, dass praktisch ausschließlich Tumorzellen getötet werden, sei es durch die Zytotoxizität, sei es durch Angriff durch das stimulierte Immunsystem, während Normalzellen in dem Gewebe praktisch vollständig erhalten bleiben. In dieser Ausführungsform braucht die bindende Substanz selbst nicht inhibierend auf GPR49 zu wirken, da die bindende Substanz dann lediglich als Marker funktionieren muß, welcher die Komponenten zu Ziel-Tumorzellen trägt. Im Falle des Einsatzes einer zytotoxischen Komponente wird es sich besonders empfehlen, wenn die pharmazeutische Zusammensetzung zur lokalen Applikation in Tumorzellen enthaltendem Gewebe hergerichtet ist, beispielsweise zur Injektion.

**[0020]** Definitionen und weitere Ausführungsformen der Erfindung.

**[0021]** GPR49 Sequenzen, insbesondere Teilsequenzen, welche in im Rahmen der Erfindung nutzbare Nukleinsäuren oder Peptide oder Proteine enthalten sind, sind in den Seq.-ID 1 bis 82 (siehe auch die Figuren) dargestellt. Die im Rahmen der Erfindung nutzbaren Nukleinsäuren oder Peptide oder Proteine können auch aus diesen Sequenzen bestehen. Im Falle der Seq.-ID 82 bzw. Teilsequenzen hieraus sind auch Mutationen V569A und/oder V666A möglich (siehe beispielsweise Seq.-ID 84). Mit umfasst sind für besagte Mutationen codierende Nukleinsäuren (beispielsweise Seq.-ID 83).

**[0022]** Im Rahmen dieser Beschreibung wird die Bezeichnung GPR49 für alle humanen Isoformen, bekannt oder neu, auf Nukleinsäuren- oder Aminosäurenbasis, verwendet. Mit diesen Begriffen mit umfaßt sind auch die im Rahmen dieser Beschreibung offenbarten kurzen Sequenzen, beispielsweise Immunisierungssequenzen. Weiterhin mit umfaßt sind auch Homologe, wobei die Homologie zumindest 80%, vorzugsweise mehr als 90%, höchstvorzugsweise mehr als 95%, beträgt, berechnet mit dem Programm MEGALIGN (DNASTAR LASERGENE) in der zum Zeitpunkt der vorliegenden Anmeldung aktuellen Fassung. Im Falle der Nukleinsäuresequenzen sind auch komplementäre oder allelische Varianten mit umfaßt. Weiterhin sind Sequenzen umfaßt, welche lediglich Teilsequenzen der explizit offenbarten Sequenzen, beispielsweise ein Exon oder mehrere Exons, oder komplementärer Sequenzen hierzu darstellen, mit der Maßgabe, daß diese Teilsequenzen im Falle der Nukleinsäuren eine für eine Hybridisierung mit einer erfindungsgemäßen Nukleinsäure hinreichende Länge, zumindest 50 Basen, aufweisen und im Falle der Proteine bzw. Peptide mit zumindest gleicher Affinität an ein protein- oder peptidspezifisches Zielmolekül binden. Weiterhin sind alle mit erfindungsgemäßen Nukleinsäuren hybridisierende Nukleinsäuren umfaßt, nämlich solche, die unter stringenten Bedingungen (5°C bis 25°C unterhalb der Aufschmelztemperatur; siehe ergänzend J.M. Sambrook et al., A laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989) und E.M. Southern, J Mol Biol, 98:503ff (1975)) hybridisieren. Es versteht sich, daß die Erfindung auch Expressionskassetten umfaßt, i.e. eine oder mehrere der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen mit mindestens einer operativ verbundenen Kontroll- oder regulatorischen Sequenz. Eine solche Expressionskassette kann auch eine Sequenz für ein bekanntes Protein umfassen, wobei im Zuge der Translation ein Fusionsprotein aus einem bekannten Protein und einem erfindungsgemäßen Protein oder Peptid entsteht. Ebenso sind auch antisense Sequenzen zu den vorstehenden Nukleinsäuresequenzen umfaßt. Schließlich sind RNA sowie damit korrelierende DNA und umgekehrt umfaßt, ebenso wie genomische DNA als auch korrelierte cDNA und umgekehrt.

**[0023]** Im Zusammenhang mit erfindungsgemäßen Verwendungen umfassen die Begriffe der GPR49 Nukleinsäuren oder Protein bzw. Peptide neben den Volllängen der offenbarten Sequenzen (siehe auch vorstehender Absatz) auch Teilsequenzen hieraus, und zwar mit einer Mindestlänge von 12 bis 30 Nukleotiden, vorzugsweise 30 bis 90 Nukleotiden, im Falle der Nukleinsäuren und einer Mindestlänge von 4 bis 10 Aminosäuren, vorzugsweise 10 bis 30 Aminosäuren, im Falle der Peptide oder Proteine. Diese Teilsequenzen können in ansonsten von GPR49 verschiedene Nukleinsäuren- oder Protein- bzw. Peptidsequenzen eingebaut sein.

**[0024]** Der Begriff der Behandlung umfaßt auch die Prophylaxe, insbesondere die Prophylaxe der Progression zu Tumoren.

**[0025]** Als Inhibitor ist eine Verbindung oder Substanz bezeichnet, welche entweder die Bildung von GPR49 Protein inhibiert oder gebildetes GPR49 Protein in der Aktivität reduziert, bezogen auf die GPR49 Aktivität in Abwesenheit des Inhibitors. Insofern kann ein Inhibitor einerseits eine Substanz sein, welche in der Entstehungskaskade von GPR49 inhibierend eingreift. Auf der anderen Seite kann ein Inhibitor eine Substanz sein, welche mit gebildetem GPR49 eine

5 Bindung eingeht, und zwar dergestalt, dass weitere physiologische Wechselwirkungen mit endogenen Substanzen zumindest reduziert sind.

**[0026]** Mimikry-Moleküle sind Verbindungen, die den variablen Bereich, insbesondere den Bindungsbereich eines Antikörpers, nachbilden und an gleicher Stelle eines Zielmoleküls binden, wie der zu Grunde liegende Antikörper.

**[0027]** Der Begriff der Antikörper umfaßt polyklonale Antikörper, monoklonale Antikörper, nicht-humane, humane und humanisierte Antikörper, sowie Phage-Display-Antikörper, aber auch chimäre Antikörper sowie spezifische Fragmente der leichten und/oder der schweren Kette des variablen Bereiches zu Grunde liegender Antikörper vorstehender Art sowie anti-idiotypische Antikörper. Die Herstellung bzw. Gewinnung solcher Antikörper mit vorgegebenen Immunogenen ist dem Durchschnittsfachmann wohl vertraut und braucht nicht näher erläutert zu werden. Weiterhin umfaßt der Begriff der Antikörper bispezifische Antikörper. Bispezifische Antikörper kombinieren eine definierte Immunzellaktivität mit einer spezifischen Tumorzellerkennung, wodurch Tumorzellen getötet werden. Ein bispezifischer Antikörper bindet einerseits an ein Auslösemolekül der Immun-Effektorzelle (z.B. CD3, CD16, CD64) und andererseits an Antigene der Tumorzelle.

**[0028]** Die galenische Herrichtung einer erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung kann in fachüblicher Weise erfolgen. Als Gegenionen für ionische Verbindungen kommen beispielsweise  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Li}^+$  oder Cyclohexylammonium infrage. Geeignete feste oder flüssige galenische Zubereitungsformen sind beispielsweise Granulate, Pulver, Dragees, Tabletten, (Mikro-) Kapseln, Suppositorien, Sirupe, Säfte, Suspensionen, Emulsionen, Tropfen oder injizierbare Lösungen (i.v., i.p., i.m.) sowie Präparate mit protrahierter Wirkstoff-Freigabe, bei deren Herstellung übliche Hilfsmittel wie Trägerstoffe, Spreng-, Binde-, Überzugs-, Quellungs-, Gleit- oder Schmiermittel, Geschmacksstoffe, Süßungsmittel und Lösungsvermittler, Verwendung finden. Als Hilfsstoffe sei Magnesiumcarbonat, Titandioxyd, Lactose, Mannit und andere Zucker, Talcum, Milcheiweiß, Gelatine, Stärke, Zellulose und ihre Derivate, tierische und pflanzliche Öle wie Lebertran, Sonnenblumen-, Erdnuss- oder Sesamöl, Polyethylenglycole und Lösungsmittel, wie etwa steriles Wasser und ein- oder mehrwertige Alkohole, beispielsweise Glycerin, genannt. Eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung ist dadurch herstellbar, dass mindestens ein erfindungsgemäß verwendeter Inhibitor in definierter Dosis mit einem pharmazeutisch geeigneten und physiologisch verträglichen Träger und ggf. weiteren geeigneten Wirk-, Zusatz- oder Hilfsstoffen mit definierter Inhibitor-dosis gemischt und zu der gewünschten Darreichungsform hergerichtet ist.

**[0029]** Tumorzellen exprimieren GPR49 differenziell, wenn Normalzellen des gleichen Gewebetyps (des gleichen oder verschiedener Probanden) dieses nicht exprimieren. Tumorzellen überexprimieren GPR49 spezifisch bzw. differenziell, wenn GPR49 im Vergleich zu Normalzellen des gleichen Gewebetyps zumindest in doppelter Menge exprimiert wird.

**[0030]** Zytotoxische Komponenten bzw. Gruppen sind Verbindungen, welche direkt oder indirekt Apoptose einleiten bzw. zu Nekrose führen oder zumindest wachstumshemmend wirken. Solche Gruppen bzw. Verbindungen können neben Radioisotopen (z.B.  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{213}\text{Bi}$ ,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ) insbesondere Zytostatika sein, welche in der Tumorthherapie eingesetzt werden. Beispiele hierfür sind: Alkylantien (z.B. Mechlorethamin, Ifosfamid, Chlorambucil, Cyclophosphamid, Melphalan, Alkylsulfonate, Busulphan, Nitrosoharnstoffe, Carmustin, Lomustin, Semustin, Triazene, Dacarbazin), Antimetaboliten (z.B. Folsäure-Antagonisten, Methotrexat, Pyrimidin-Analoga, Fluoruracil, Fluor-desoxyuridin, Cytarabin, Gemcitabin, Purin-Analoga, Mercaptopurin), Mitosehemmer (z.B. Vincaalkaloide, Vincristin, Vinblastin, Paclitaxal, Docetaxel, Protaxel), Epipodophyllotoxine (z.B. Etoposid, Teniposid), Antibiotika (z.B. Dactinomycin, Daunorubicin, Idarubicin, Anthracycline, Bleomycin, L-Asparaginase), Platinkomplexverbindungen (z.B. Cisplatin), Hormone und verwandte Verbindungen (z.B. Nebennierenrindensteroid, Aminogluthetimid, Gestagene, Östrogene, Androgene, Antiöstrogene, Tamoxifen, Steroidanaloga, Flutamid). Bei Bindung einer solchen Verbindung mit einer an GPR49 bindenden Substanz erfolgt die Kopplung dergestalt, daß die Affinität zu GPR49 um nicht mehr als 90%, vorzugsweise 50%, bezogen auf die Substanz ohne zytostatische Gruppe, reduziert ist und die zytostatische Wirkung der Gruppe um nicht mehr als 90%, vorzugsweise 50%, bezogen auf die Verbindung ohne Substanz, reduziert ist.

**[0031]** Eine immunstimulierende Komponente ist meist ein Protein oder ein wirksamer Bestandteil hiervon, welches Zellen des Immunsystems stimuliert. Beispiele hierfür sind: Zytokine, wie M-CSF, GM-CSF, G-CSF, Interferone, wie IFN-alpha, -beta, -gamma, Interleukine wie IL-1 bis -16 (außer -8), human LIF, Chemokine wie Rantes, MCAF, MIP-1-alpha, -beta, NAP-1 und IL-8.

**[0032]** Eine Reportergruppe ist ein Atom, Molekül oder eine Verbindung, welche in Verbindung mit einem hierauf abgestellten Assay den Nachweis der Reportergruppe und der somit mit der Reportergruppe verbundenen Verbindung oder Substanz ermöglicht. Beispiele für Reportergruppen und hiermit assoziierte Detektionsmethoden sind:  $^{32}\text{P}$ -Labeling und Intensitätsmessung mittels Phosphorimager. Viele weitere Beispiele sind dem Durchschnittsfachmann bekannt und bedürfen nicht der detaillierten Aufzählung.

**[0033]** Eine an GPR49 bindende Substanz kann eine Substanz sein, welche an ein GPR49 Protein oder eine GPR49 RNA bindet.

**[0034]** Im Rahmen der vorstehenden Definition gegenüber dem engen Wortsinn erweiterte Begriffsbestimmungen umfassen auch die bestimmten Begriffe im engen Wortsinn.

Beispiele.

**[0035]** Im Folgenden wird die Erfindung anhand von lediglich bevorzugte Ausführungsformen darstellenden Beispielen und Figuren näher erläutert. Es zeigen:

Fig. 1: Chipanalyse zur differentiellen Expression von GPR49 in Colontumorgewebe aus 28 Patienten,

Fig. 2: Northern-Blot-Verfahren des Cancer-Profilings-Arrays zur differentiellen Expression von GPR49 in Colon-, Uterus- und Rectumtumorgewebe,

Fig. 3: Taqman-Analyse zur differentiellen Expression von GPR49 in Colontumorgewebe (nach erfolgter Laser-gestützter Microdissektion der Normalepithelien und Tumorzellen),

Fig. 4: Taqman-Analyse zur spezifischen Expression von GPR49 im Gewebe des Dünndarms (Small Intestine), der Plazenta, Rückenmark (Spinal Cord), Nebenniere (Adrenal Gland), Gehirn (Brain), Magen (Stomach) und Skelettmuskulatur (Skeletton Muscle) aus 26 Normalgeweben eines Patienten,

Fig. 5: Verwendete Peptidsequenzen zur Immunisierung von Kanninchen und zur Gewinnung von Antikörpern gegen GPR49,

Fig. 6: Verwendete cDNA Sequenz zur Immunisierung in Ratten mit der Ektodomäne des N-Terminus von GPR49,

Figuren 7 bis 16: Teilsequenzen aus GPR49, welche zum Einsatz in Screening Verfahren geeignet sind,

Fig. 17: Nukleinsäuresequenz von GPR49,

Fig. 18: Aminosäuresequenz von GPR49,

Fig. 19: alternative verwendete cDNA Sequenzen (Vollängen) zur Immunisierung in Ratten, und

Fig. 20: in situ Hybridisierungen in Colon Tumorgewebe.

Beispiel 1: Untersuchte Gewebeprobe

**[0036]** Es wurde Colontumorgewebe von 28 Patienten mit zum Zeitpunkt der Erhebung invasiven Tumoren entnommen, und zwar einerseits aus dem Zentraltumor und andererseits aus der Invasionsfront. Zu Vergleichszwecken wurde zugleich Normalgewebe den Patienten entnommen. Die drei Gewebeprobentypen (Kerntumor, Invasionsfront, Normalgewebe) aus jeweils einem Patienten wurden einander zugeordnet. Im Einzelnen wurde wie folgt verfahren. Die Tumor- und -normalgewebeprobe wurden gefroren und in 10µm Proben geschnitten. Aus jedem Patienten wurden zumindest 30 Proben gewonnen. Normale und maligne Bereiche wurden durch einen Pathologen mit Hilfe eines Mikroskopes identifiziert und markiert. Hierbei wird ggf. auch die Verlaufsform identifiziert und der Probe zugeordnet. Die jeweiligen Bereiche wurden unter dem Mikroskop resektiert unter Verwendung einer Nadel und jeweils separat auf -80°C eingefroren in 150µl GTC Puffer enthaltend 2% β-Mercaptoethanol.

**[0037]** Für das Cancer-Profilings-Array wurden Tumor- und Normalgewebeprobe aus Brust, Uterus, Darm, Magen, Ovar, Lunge, Niere Rektum und Schilddrüse verwendet.

Beispiel 2: Expressionsprofile der untersuchten Gewebe

**[0038]** Die Proben aus Beispiel 1 wurden einer Expressionsanalyse auf GPR49 mittels der GeneChip-Technologie (Affimetrix) unterworfen. Dabei wird aus Proben aus Beispiel 1 RNA isoliert, amplifiziert und markiert. Die so erhaltene RNA wird einem Genchip aufgegeben, welcher eine Vielzahl von verschiedenen Oligonukleotiden enthält, wobei jeweils

eines (oder auch mehrere, zu Kontrollzwecken) für ein definiertes Gen repräsentativ ist, i.e. eine charakteristische Teilsequenz hieraus aufweist. Man erhält sowohl qualitative, wie auch quantitative Information, ob eine betreffende Normal- und/oder Tumorprobe ein betreffendes Gen exprimiert, und zwar auch im Verhältnis Tumor/Normal. Die Ergebnisse sind in der Figur 1 dargestellt. Man erkennt eine deutliche Überexpression von GPR49 sowohl in der Invasionsfront des Tumors als auch im Zentraltumor selbst.

**[0039]** Diese Ergebnisse werden auch durch GPR49 Taqman Ergebnisse gestützt, welche in der Figur 3 dargestellt sind. Bei diesen Experimenten wird im Einzelnen wie folgt verfahren. Eine Poly-A<sup>+</sup>-RNA Präparation erfolgt unter Verwendung eines modifizierten Protokolls gemäß dem Poly-A-Tract 1000 Kit (Amersham, Freiburg, Deutschland). Gewebeprobe, erhalten gemäß Beispiel 1, werden langsam auf Eis aufgetaut, zerkleinert und mit 300µl vorgewärmten Verdünnungspuffer, enthaltend 1% β-Mercaptoethanol, sowie 10 pmol biotinyliertem Oligo-dT Primer versetzt, und für 5 min. auf 70°C erhitzt. Die Proben werden dann für 5 min. bei 20°C gehalten und anschließend bei 20000g für 10 min. zentrifugiert. Dem Überstand werden 120µl gewaschener Streptavidin-gekoppelter paramagnetischer Partikel (SA-PMP) zugeben und es wurde bei 20°C für 5 min. inkubiert. Die mRNA wurde dann durch magnetische Trennung isoliert. Nach drei Waschschritten mit 0,5x SSC Lösung wird die mRNA in Nuklease-freiem Wasser eluiert, in der Speed-Vac einrotiert, um dann in 11µl DEPC Wasser eluiert zu werden. Es folgt eine RNA-Konzentrationsbestimmung durch RiboGreen Messung. Anschließend erfolgt die cDNA Synthese. 1µl T7-dT24-(GGCCAG) Primer (100 pmol/µl) wird zu den 10µl mRNA gegeben und auf 70°C für 5 min. erhitzt. Dann wurde die Probe auf Eis gelegt und es werden 4µl 5x first strand buffer (Invitrogen), 2µl DTT (0,1M), 1µl dNTP's (10mM), und 14U anti-RNase (Ambion) zugegeben, gefolgt von einer Inkubation für 2 min. bei 37°C. Dann werden 200nl Superscript II Reverse Transkriptase (Invitrogen) zugegeben, gefolgt von einer Inkubation für 1 h bei 37°C. Anschließend erfolgt die Zweitstrangsynthese und DNA Reinigung. Sofort nach der Synthese des ersten Stranges, wie vorstehend, werden 91µl Wasser, 30µl 5x second strand buffer, 3µl dNTP's (10mM), 10U E. coli DNA-ligase, 40U DNA Polymerase I und 2U RNase H (alle von Invitrogen) zugegeben und die Mischung wird für 2 h bei 16°C inkubiert. Dann werden 10U T4 DNA Polymerase (Invitrogen) zugegeben und weitere 5 min. inkubiert. Die Reaktion wird durch Zugabe von 10 µl 0,5mM EDTA abgebrochen. Die Reinigung der DNA erfolgt gemäß den Vorschriften des GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kits (Amersham). Die gereinigte DNA wird unter Vakuum eingedampft, in 9 µl DEPC Wasser aufgenommen und bei -20°C gelagert. Dann erfolgt die in vitro Transkription und cRNA Reinigung. Die in vitro Transkription wird gemäß dem Herstellerprotokoll von Ambion (Huntingdon, UK) durchgeführt. Zu 8 µg der cDNA werden 7,5µl dNTP's (75mM), 2µl 10x reaction buffer (Ambion), 2µl 10 T7 Enzymmix (Ambion) und 14U anti-RNase (Ambion) zugegeben, gefolgt von einer Inkubation von 6 h bei 37°C. Die Reinigung der erhaltenen cRNA erfolgt gemäß dem Herstellerprotokoll zum Rneasy Mini Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland). Nach Elution von der Säule wird die cRNA (unter Vakuum) eingedampft, in Wasser aufgenommen und bei -80°C eingelagert. Anschließend wird die zweite cDNA Synthese durchgeführt. Die Synthese des ersten Stranges erfolgt mit random hexamer primer (250ng/µl). Nach Inkubation über 60 min. wird das cRNA-cDNA Hybrid für 20 min. mit 2U RNase H inkubiert, gefolgt von einem 2-minütigen Inaktivierungsschritt bei 37°C. Schließlich erfolgt die quantitative PCR und Auswertung. 1ng cDNA werden für die Amplifikation eingesetzt mit 2,5µl 10x SYBR®Green PCR Puffer, 3µl Magnesiumchlorid (25mM), 2µl dNTP's (mit dUTP; 12,5 mM) und 0,625U Ampli Taq Gold in einem Reaktionsvolumen von 25µl. Die Reaktion wird in einem GeneAmp 5700 Sequence Detection System (Applied Biosystems, Weiterstadt, Deutschland) durchgeführt. Die Bedingungen sind: 2 min. 50°C, 10 min. 95°C, 15 s 95°C, 1 min. 60°C, die letzten beiden Phasen in 40 Zyklen. Für die jeweiligen Gene werden die geeigneten Vorwärts- bzw. Rückwärtsprimer verwendet. Die Auswertung erfolgt nach der ΔΔCt Methode nach Herstellervorschrift. Der Ct Wert von beta actin wurde bei einer Grenze von 0,1 gemessen. Zur Normalisierung wird der Ct Wert des beta actin vom Ct Wert des untersuchten Gens abgezogen. Dieser normalisierte Ct Wert wird im Falle der Tumorgewebe auf die Normalgewebe bezogen bzw. normalisiert, wodurch der ΔΔCt erhalten wird. Wird dieser Wert als Potenz zur Basis 2 eingesetzt, so wird eine relative Größe der Überexpression in Tumorgewebe gegenüber dem Normalgewebe des gleichen Patienten erhalten. Auch in diesen Experimenten erkennt man eine vielfache Überpression des GPR49 in der Invasionsfront sowie dem Zentraltumor, verglichen mit den korrespondierenden Normalgewebe. Der Figur 4 ist zu entnehmen, dass in der überwiegenden Anzahl untersuchter Normalgewebe die endogene Expression von GPR49 gerade messbar bis allenfalls sehr gering ist.

**[0040]** Der Figur 2, welche einen Northern Blot anhand des Cancer-Profiling-Arrays darstellt, entnimmt man, dass eine differenzielle Expression nicht nur in Colon festzustellen ist, sondern auch in Uterus und Rectum.

Beispiel 3: Nachweis eines überexprimierten Gens mittels Antikörpern.

**[0041]** In diesem Beispiel wird die Markierung von Tumorzellen durch einen gegen ein erfindungsgemäß verwendetes Protein gerichteten Antikörper in vivo (Mausmodell) beschrieben. Ein solcher erfindungsgemäßer Antikörper wird mit einem Markermolekül (z.B. Radioisotop) markiert. In NMRI-Nacktmäuse werden mit einem erfindungsgemäßen Gen transfizierte humane Zellen transplantiert. Nach einem definierten Zeitraum, beispielsweise 30 Tage, wird den Mäusen der markierte Antikörper injiziert. Die Kontrolltiere werden mit einem nicht relevanten Antikörper behandelt.

Wenige Stunden nach der Antikörperapplikation werden die Tiere getötet und aus allen Organen Gewebeschnitte angefertigt. Diese Schnitte werden auf die Gegenwart von markiertem Antikörper untersucht.

**[0042]** Bei den Antikörpern kann es sich im einfachsten Fall um polyklonale Antikörper gegen humanes Protein, konjugiert mit einem Trägerprotein, in Kaninchen gezogen und mit den spezifischen immobilisierten Peptiden affinitätsgereinigt, handeln. Geeignete Immunisierungspeptide sind beispielsweise aus Teilsequenzen eines erfindungsgemäßen Proteins gebildet, wozu auch auf die Fig. 5 verwiesen wird. Bei der Sequenz AA 852-862 dieser Figur kann das endständige Cystein auch entfallen, da es sich dabei um eine Aminosäure zur Koppelung an ein Trägerprotein handelt. Als Immunogene können ebenso mit cDNA des Gens, oder Teilsequenzen hiervon transfizierte Zellen, wie beispielsweise COS-Zellen oder NIH3T3-Zellen, eingesetzt werden, wozu beispielhaft auf die Fig. 6 oder 17 verwiesen wird. Ebenso sind Tumorzellen, die endogen das Protein exprimieren, geeignet. Weiterhin kann auch rekombinant hergestelltes Protein bzw. Teilsequenzen hieraus, die in Produzieren, wie E. coli oder Insektenzellen oder Säugerzellen exprimiert werden, zur Immunisierung eingesetzt werden. Selbstverständlich können stattdessen auch entsprechende monoklonale Antikörper oder Fragmente hiervon eingesetzt werden. Die Herstellung von monoklonalen Antikörpern ausgehend von vorstehenden Immunisierungssequenzen und beispielsweise über die Genereierung und Selektion von Hybridomzellen ist dem Durchschnittsfachmann wohl vertraut und bedarf keiner detaillierten Darstellung.

Beispiel 4: Immunhistochemischer Nachweis von Tumorzellen oder Nachweis mittels in situ Hybridisierung.

**[0043]** Gewebe wird aus einem Patienten mit Krebs oder dem Verdacht auf Krebs isoliert und als Paraffin- bzw. Gefrierschnitte präpariert. Diese Schnitte werden für den immunhistochemischen Nachweis mit einem gegen ein erfindungsgemäßes Protein gerichteten Antikörper auf die Überexpression des Proteins in Zellen untersucht. Die immunhistologische Untersuchung mit dem Antikörper zeigt bei heraufregulierten Genen höhere Expression des Proteins in den Tumorzellen im Vergleich zu umliegenden Normalgewebe. Die Untersuchung erfolgt im Einzelnen beispielsweise durch Inkubation mit dem Antikörper als primärem Antikörper, einem biotinyliertem sekundären anti-Kaninchen Antikörper und einer Streptavidin gekoppelten Meerrettich-peroxidase. Die Färbung erfolgt mit DAB als chromogenen Substrat (braune Färbung). Die Gegenfärbung erfolgt mit Hemalaun-Lösung (blaue Färbung). Es sind maligne und nichtmaligne Zellen unterscheidbar, wobei die malignen Zellen eine starke Färbung, i.e. hohen Gehalt an erfindungsgemäßem Protein, aufweisen, während die nichtmalignen Zellen nur moderat gefärbt sind.

**[0044]** Ergebnisse einer in situ Hybridisierung sind in der Figur 20 dargestellt. Gewebeproben aus Colongewebe wurden mit einer GPR49 spezifischen antisense Sonde inkubiert und mit BM-Purple gefärbt. Die Gegenfärbung erfolgte mit Kernecht-Rot. Es sind maligne und nichtmaligne Epithelzellen voneinander zu unterscheiden, von denen die malignen Zellen eine starke Anfärbung der RNA in der in situ Hybridisierung zeigen. Man erkennt, dass GRP49 im Colontumorgewebe (links) auf RNA Ebene deutlich überexprimiert ist, verglichen zur Kontrolle (Mitte) und zum Colonnormalgewebe (rechts).

Beispiel 5: Erzeugung von anti-idiotypischen monoklonalen Antikörpern zu therapeutischen Zwecken

**[0045]** Ausgehend von einem erfindungsgemäß verwendeten Protein wird in fachüblicher Weise ein monoklonaler Antikörper Ab1 erzeugt, welcher in der Lage ist, das Protein spezifisch zu erkennen und daran zu binden. Dabei ist es unwesentlich, ob eine funktionale Domäne oder ein anderer zugänglicher Bereich erkannt wird. Mit Hilfe des erzeugten Antikörpers Ab1 wird in ebenso fachüblicher Weise ein zweiter anti-idiotypischer nicht humanisierter, beispielsweise Maus, monoklonaler Antikörper aAB1 erzeugt, welcher zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Krebs, insbesondere Colon-, Uterus- oder Rectumtumoren, geeignet ist. Die Funktion des Antikörpers aAB1 beruht dabei darauf, dass dieser dem humanen Immunsystem ein Image des (humanen) Protein-Antigens gleichsam vortäuscht, wobei das Immunsystem den Antikörper aAB1 aufgrund seiner mangelnden Humanisierung als körperfremd erkennt. Der humane Körper bildet folglich eigene Antikörper, die gegen aAB1 und somit auch gegen das humane Protein bzw. dieses exprimierende Tumorzellen gerichtet sind.



## SEQUENCE LISTING

5 <110> metagen Pharmaceuticals GmbH  
 Staub, Eike  
 Stein, Anke  
 Weber, Birgit

10 <120> Verwendung von an GRP49 bindenden Substanzen zur Diagnose und  
 Behandlung von Krebs

<130> MET/DE/329

<140> DE 103 39 820.1  
 <141> 2003-08-22

15 <160> 84  
 <170> PatentIn version 3.2

<210> 1  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 20 <213> Artificial

<220>  
 <223> Partial sequences of GRP49

<400> 1  
 25 Cys Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Ser Asn Gln Trp Asn Lys Gly Asp  
 1 5 10 15

30 <210> 2  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Partial sequences of GRP49

35 <400> 2  
 Ile Asn Ser Asp Asp Val Glu Lys Gln Ser Cys  
 1 5 10

40 <210> 3  
 <211> 1605  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

45 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49

<400> 3  
 ggcagctctc ccaggtctgg tgtgttgctg aggggctgcc ccacacactg tcattgcgag 60  
 cccgacggca ggatgttgct cagggtggac tgctccgacc tggggctctc ggagctgcct 120  
 50 tccaacctca gcgtcttcac ctctaccta gacctagta tgaacaacat cagtcagctg 180  
 ctcccgaatc ccctgcccag tctccgcttc ctggaggagt tacgtcttgc gggaaacgct 240  
 ctgacatata ttccaaggg agcattcact ggcctttaca gtcttaaagt tcttatgctg 300  
 55 cagaataatc agctaagaca cgtaccaca gaagctctgc agaatttgcg aagccttcaa 360

EP 1 602 930 A2

tccctgcgtc tggatgctaa ccacatcagc tatgtgcccc caagctgttt cagtggcctg 420  
 cattccctga ggcacctgtg gctggatgac aatgcgttaa cagaaatccc cgtccaggct 480  
 5 tttagaagtt tatcggcatt gcaagccatg accttggtccc tgaacaaaat acaccacata 540  
 ccagactatg cctttggaaa cctctccagc ttggtagttc tacatctcca taacaataga 600  
 atccactccc tgggaaagaa atgctttgat gggctccaca gcctagagac tttagattta 660  
 10 aattacaata accttgatga attccccact gcaattagga cactctccaa ccttaaagaa 720  
 ctaggatttc atagcaacaa tatcaggctg atacctgaga aagcatttgt aggcaaccct 780  
 tctcttatta caatacattt ctatgacaat cccatccaat ttgttgggag atctgctttt 840  
 15 caacatttac ctgaactaag aacactgact ctgaatggtg cctcacaat aactgaattt 900  
 cctgatttaa ctggaactgc aaacctggag agtctgactt taactggagc acagatctca 960  
 tctcttcctc aaaccgtctg caatcagtta cctaactctcc aagtgctaga tctgtcttac 1020  
 20 aacctattag aagatttacc cagtttttca gtctgccaaa agcttcagaa aattgacctta 1080  
 agacataatg aaatctacga aattaaagtt gacactttcc agcagttgct tagcctccga 1140  
 tcgctgaatt tggcttgga caaaattgct attattcacc ccaatgcatt ttccactttg 1200  
 25 ccatccctaa taaagctgga cctatcgtcc aacctcctgt cgtcttttcc tataactggg 1260  
 ttacatgggt taactcactt aaaattaaca ggaaatcatg ccttacagag cttgatatca 1320  
 tctgaaaact ttccagaact caagggtata gaaatgcctt atgcttacca gtgctgtgca 1380  
 30 tttggagtgt gtgagaatgc ctataagatt tctaataat ggaataaagg tgacaacagc 1440  
 agtatggacg accttcataa gaaagatgct ggaatgtttc aggctcaaga tgaacgtgac 1500  
 cttgaagatt tcctgcttga ctttgaggaa gacctgaaag cccttcattc agtgcagtgt 1560  
 35 tcaccttccc caggccccctt caaacctgt gaacacctgc ttgat 1605

<210> 4  
 <211> 535  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Partial sequences of GRP49

<400> 4

45 Gly Ser Ser Pro Arg Ser Gly Val Leu Leu Arg Gly Cys Pro Thr His  
 1 5 10 15

50 Cys His Cys Glu Pro Asp Gly Arg Met Leu Leu Arg Val Asp Cys Ser  
 20 25 30

55 Asp Leu Gly Leu Ser Glu Leu Pro Ser Asn Leu Ser Val Phe Thr Ser  
 35 40 45

60 Tyr Leu Asp Leu Ser Met Asn Asn Ile Ser Gln Leu Leu Pro Asn Pro  
 50 55 60

EP 1 602 930 A2

Leu Pro Ser Leu Arg Phe Leu Glu Glu Leu Arg Leu Ala Gly Asn Ala  
 65 70 75 80  
 5 Leu Thr Tyr Ile Pro Lys Gly Ala Phe Thr Gly Leu Tyr Ser Leu Lys  
 85 90 95  
 Val Leu Met Leu Gln Asn Asn Gln Leu Arg His Val Pro Thr Glu Ala  
 100 105 110  
 10 Leu Gln Asn Leu Arg Ser Leu Gln Ser Leu Arg Leu Asp Ala Asn His  
 115 120 125  
 15 Ile Ser Tyr Val Pro Pro Ser Cys Phe Ser Gly Leu His Ser Leu Arg  
 130 135 140  
 His Leu Trp Leu Asp Asp Asn Ala Leu Thr Glu Ile Pro Val Gln Ala  
 145 150 155 160  
 20 Phe Arg Ser Leu Ser Ala Leu Gln Ala Met Thr Leu Ala Leu Asn Lys  
 165 170 175  
 25 Ile His His Ile Pro Asp Tyr Ala Phe Gly Asn Leu Ser Ser Leu Val  
 180 185 190  
 Val Leu His Leu His Asn Asn Arg Ile His Ser Leu Gly Lys Lys Cys  
 195 200 205  
 30 Phe Asp Gly Leu His Ser Leu Glu Thr Leu Asp Leu Asn Tyr Asn Asn  
 210 215 220  
 35 Leu Asp Glu Phe Pro Thr Ala Ile Arg Thr Leu Ser Asn Leu Lys Glu  
 225 230 235 240  
 Leu Gly Phe His Ser Asn Asn Ile Arg Ser Ile Pro Glu Lys Ala Phe  
 245 250 255  
 40 Val Gly Asn Pro Ser Leu Ile Thr Ile His Phe Tyr Asp Asn Pro Ile  
 260 265 270  
 45 Gln Phe Val Gly Arg Ser Ala Phe Gln His Leu Pro Glu Leu Arg Thr  
 275 280 285  
 Leu Thr Leu Asn Gly Ala Ser Gln Ile Thr Glu Phe Pro Asp Leu Thr  
 290 295 300  
 50 Gly Thr Ala Asn Leu Glu Ser Leu Thr Leu Thr Gly Ala Gln Ile Ser  
 305 310 315 320  
 55 Ser Leu Pro Gln Thr Val Cys Asn Gln Leu Pro Asn Leu Gln Val Leu  
 325 330 335

EP 1 602 930 A2

Asp Leu Ser Tyr Asn Leu Leu Glu Asp Leu Pro Ser Phe Ser Val Cys  
340 345 350

5 Gln Lys Leu Gln Lys Ile Asp Leu Arg His Asn Glu Ile Tyr Glu Ile  
355 360 365

Lys Val Asp Thr Phe Gln Gln Leu Leu Ser Leu Arg Ser Leu Asn Leu  
370 375 380

10 Ala Trp Asn Lys Ile Ala Ile Ile His Pro Asn Ala Phe Ser Thr Leu  
385 390 395 400

15 Pro Ser Leu Ile Lys Leu Asp Leu Ser Ser Asn Leu Leu Ser Ser Phe  
405 410 415

Pro Ile Thr Gly Leu His Gly Leu Thr His Leu Lys Leu Thr Gly Asn  
420 425 430

20 His Ala Leu Gln Ser Leu Ile Ser Ser Glu Asn Phe Pro Glu Leu Lys  
435 440 445

25 Val Ile Glu Met Pro Tyr Ala Tyr Gln Cys Cys Ala Phe Gly Val Cys  
450 455 460

Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Ser Asn Gln Trp Asn Lys Gly Asp Asn Ser  
465 470 475 480

30 Ser Met Asp Asp Leu His Lys Lys Asp Ala Gly Met Phe Gln Ala Gln  
485 490 495

35 Asp Glu Arg Asp Leu Glu Asp Phe Leu Leu Asp Phe Glu Glu Asp Leu  
500 505 510

Lys Ala Leu His Ser Val Gln Cys Ser Pro Ser Pro Gly Pro Phe Lys  
515 520 525

40 Pro Cys Glu His Leu Leu Asp  
530 535

45 <210> 5  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
50 <223> Partial sequences of GRP49

<400> 5

Gly Ser Ser Pro Arg Ser Gly Val Leu  
1 5

55 <210> 6

**EP 1 602 930 A2**

<211>	4
<212>	PRT
<213>	Artificial

<220>  
<223> Partial sequences of GRP49

**<400> 6**

Ser Ser Pro Arg  
1

<210>	7
<211>	5
<212>	PRT
<213>	Artificial

<220>  
<223> Partial sequences of GRP49

**<400> 7**

Gly Cys Pro Thr His  
1 5

```
<210> 8
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial
```

**<220>**  
**<223>** Partial sequences of GRP49

**<400> 8**

His Cys Glu Pro Asp Gly Arg Met  
1 5

```
<210> 9
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial
```

**<220>**  
**<223> Partial sequences of GRP49**

**<400> 9**

Glu Pro Asp Gly Arg Met  
1 5

<210>	10
<211>	4
<212>	PRT
<213>	Artificial

<220>  
<223> Partial sequences of GRP49

<400> 10

Glu Pro Asp Gly  
1

5  
 <210> 11  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 11  
 10 Val Asp Cys Ser Asp Leu Gly Leu Ser Glu Leu Pro Ser Asn Leu Ser  
 1 5 10 15  
 15  
 <210> 12  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 20 <400> 12  
 Asp Leu Gly Leu Ser Glu Leu Pro Ser  
 1 5  
 25  
 <210> 13  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 30 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 13  
 Asp Leu Gly Leu Ser Glu Leu  
 1 5  
 35  
 <210> 14  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 40  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 14  
 45 Gln Asn Asn Gln Leu Arg His Val Pro Thr  
 1 5 10  
 50  
 <210> 15  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 55 <400> 15  
 Gln Asn Asn Gln Leu

EP 1 602 930 A2

1 5

5 <210> 16  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 16  
 Asn Gln Leu Arg  
 1

15 <210> 17  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 17  
 Arg His Val Pro Thr  
 1 5

25 <210> 18  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 18  
 Arg Leu Asp Ala Asn His  
 1 5

35 <210> 19  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

40 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 19  
 Asp Asp Asn Ala Leu Thr Glu Ile  
 1 5

45 <210> 20  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

50 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 20

55

EP 1 602 930 A2

Asp Asn Ala Leu  
1

5  
<210> 21  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> Artificial

10  
<220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
<400> 21

His Asn Asn Arg Ile His Ser Leu Gly Lys Lys Cys Phe Asp Gly  
1 5 10 15

15  
<210> 22  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

20  
<220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
<400> 22

25  
His Asn Asn Arg Ile His Ser Leu Gly  
1 5

30  
<210> 23  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
<400> 23

35  
Leu Gly Lys Lys Cys Phe  
1 5

40  
<210> 24  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

45  
<220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
<400> 24

Tyr Asn Asn Leu Asp Glu Phe Pro Thr Ala  
1 5 10

50  
<210> 25  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

55  
<220>  
<223> Partial sequences of GRP49



EP 1 602 930 A2

5 <400> 25  
Tyr Asn Asn Leu Asp Glu Phe  
1 5

10 <210> 26  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
<400> 26  
Asn Leu Asp Glu Phe  
1 5

20 <210> 27  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
<400> 27  
Thr Leu Ser Asn Leu Lys Glu Leu Gly Phe  
1 5 10

30 <210> 28  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

35 <220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
<400> 28  
Ser Asn Leu Lys  
1

40 <210> 29  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
<400> 29  
Ser Asn Asn Ile Arg Ser Ile Pro Glu  
1 5

50 <210> 30  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

55

EP 1 602 930 A2

<220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 30  
 5 Ser Asn Asn Ile Arg Ser Ile  
 1 5  
  
 <210> 31  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 10  
  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 15 <400> 31  
 Asn Asn Ile Arg  
 1  
 20  
 <210> 32  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 25  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 32  
 Asn Ile Arg Ser Ile  
 1 5  
 30  
 <210> 33  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 35  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 33  
 40 Tyr Asp Asn Pro Ile  
 1 5  
 <210> 34  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 45  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 34  
 50 Pro Glu Arg Leu  
 1  
 55  
 <210> 35  
 <211> 5  
 <212> PRT

EP 1 602 930 A2

5                   <213> Artificial  
                   <220>  
                   <223> Partial sequences of GRP49  
                   <400> 35  
                   Gly Ala Ser Gln Ile  
                   1                   5  
 10                   <210> 36  
                   <211> 6  
                   <212> PRT  
                   <213> Artificial  
 15                   <220>  
                   <223> Partial sequences of GRP49  
                   <400> 36  
                   Phe Pro Asp Leu Thr Gly  
                   1                   5  
 20                   <210> 37  
                   <211> 4  
                   <212> PRT  
 25                   <213> Artificial  
                   <220>  
                   <223> Partial sequences of GRP49  
                   <400> 37  
 30                   Phe Pro Asp Leu  
                   1  
                   <210> 38  
                   <211> 4  
 35                   <212> PRT  
                   <213> Artificial  
                   <220>  
                   <223> Partial sequences of GRP49  
 40                   <400> 38  
                   Asp Leu Thr Gly  
                   1  
 45                   <210> 39  
                   <211> 5  
                   <212> PRT  
                   <213> Artificial  
 50                   <220>  
                   <223> Partial sequences of GRP49  
                   <400> 39  
                   Glu Asp Leu Pro Ser  
                   1                   5  
 55                   <210> 40

EP 1 602 930 A2

5  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 40  
 Lys Leu Gln Lys Ile Asp Leu Arg His  
 1 5  
 10  
 <210> 41  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 41  
 Tyr Glu Ile Lys Val Asp Thr  
 1 5  
 20  
 <210> 42  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 42  
 Asp Leu Ser Ser  
 1  
 30  
 <210> 43  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 43  
 Ser Ser Glu Asn Phe Pro Glu  
 1 5  
 40  
 <210> 44  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 44  
 Glu Asn Phe Pro  
 1  
 55

EP 1 602 930 A2

5  
 <210> 45  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 45  
 Asn Ala Tyr Lys Ile  
 1 5

10  
 <210> 46  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 46  
 Trp Asn Lys Gly Asp Asn Ser Ser Met  
 1 5

15  
 <210> 47  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 47  
 Trp Asn Lys Gly Asp  
 1 5

20  
 <210> 48  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 48  
 Asp Leu His Lys Lys Asp Ala  
 1 5

25  
 <210> 49  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 49  
 Gln Asp Glu Arg Asp Leu Glu Asp

30  
 <210> 46  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 46  
 Trp Asn Lys Gly Asp Asn Ser Ser Met  
 1 5

35  
 <210> 47  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 47  
 Trp Asn Lys Gly Asp  
 1 5

40  
 <210> 48  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 48  
 Asp Leu His Lys Lys Asp Ala  
 1 5

45  
 <210> 49  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 49  
 Gln Asp Glu Arg Asp Leu Glu Asp

50  
 <210> 46  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 46  
 Trp Asn Lys Gly Asp Asn Ser Ser Met  
 1 5

55  
 <210> 47  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 47  
 Trp Asn Lys Gly Asp  
 1 5

EP 1 602 930 A2

1 5

5 <210> 50  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
<400> 50

Phe Glu Glu Asp Leu Lys Ala  
1 5

15 <210> 51  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
<400> 51

25 Pro Ser Pro Gly Pro Phe Lys Pro Cys Glu His Leu  
1 5 10

30 <210> 52  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
<400> 52

35 Phe Lys Pro Cys Glu His Leu  
1 5

40 <210> 53  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
<400> 53

Gly Pro Phe Lys  
1

50 <210> 54  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Artificial

55 <220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
<400> 54

EP 1 602 930 A2

Arg Ser Pro Leu Tyr Ile Ser Pro Ile Lys  
1 5 10

5  
<210> 55  
<211> 20  
<212> PRT  
<213> Artificial

10  
<220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
<400> 55

Thr Phe Gly Ser Phe Ala Arg His Gly Ala Trp Trp Glu Asn Gly Val  
1 5 10 15

15  
Gly Cys His Val  
20

20  
<210> 56  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

25  
<220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
<400> 56

Glu Asn Gly Val  
1

30  
<210> 57  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

35  
<220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
<400> 57

40  
Ser Glu Ser Ser  
1

45  
<210> 58  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Partial sequences of GRP49

50  
<400> 58

Ala Leu Glu Arg Gly Phe Ser  
1 5

55  
<210> 59  
<211> 17  
<212> PRT

<213> Artificial  
 <220>  
 5 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 59  
 Phe Ser Val Lys Tyr Ser Ala Lys Phe Glu Thr Lys Ala Pro Phe Ser  
 1 5 10 15  
 10 Ser  
 <210> 60  
 15 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 20 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 60  
 Ala Lys Phe Glu Thr Lys Ala Pro Phe  
 1 5  
 25 <210> 61  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 30 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 61  
 Gly Gly Ser Lys Tyr Gly Ala Ser Pro  
 1 5  
 35 <210> 62  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 40 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 62  
 45 Ser Lys Tyr Gly  
 1  
 <210> 63  
 <211> 4  
 50 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 63  
 55 Lys Tyr Gly Ala



EP 1 602 930 A2

1

5 <210> 64  
<211> 18  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
<400> 64

15 Tyr Gly Ala Ser Pro Leu Cys Leu Pro Leu Pro Phe Gly Glu Pro Ser  
1 5 10 15

Thr Met

20 <210> 65  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
<400> 65

30 Tyr Gly Ala Ser Pro  
1 5

35 <210> 66  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

40 <220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
<400> 66

Phe Gly Glu Pro Ser Thr  
1 5

45 <210> 67  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

50 <220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
<400> 67

Glu Pro Ser Thr  
1

55 <210> 68  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Partial sequences of GRP49

<400> 68

Cys Asn Leu Asp Lys Gly Asp Leu Glu Asn Ile Trp Asp Leu Ser Met  
1 5 10 15

Val Lys His

<210> 69  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Partial sequences of GRP49

<400> 69

Leu Asp Lys Gly Asp Leu Glu Asn  
1 5

<210> 70  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Partial sequences of GRP49

<400> 70

Asp Lys Gly Asp Leu  
1 5

<210> 71  
<211> 82  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Partial sequences of GRP49

<400> 71

His Phe Lys Glu Asp Leu Val Ser Leu Arg Lys Gln Thr Tyr Val Trp  
1 5 10 15

Thr Arg Ser Lys His Pro Ser Leu Met Ser Ile Asn Ser Asp Asp Val  
20 25 30

Glu Lys Gln Ser Cys Asp Ser Thr Gln Ala Leu Val Thr Phe Thr Ser  
35 40 45

Ser Ser Ile Thr Tyr Asp Leu Pro Pro Ser Ser Val Pro Ser Pro Ala  
50 55 60

Tyr Pro Val Thr Glu Ser Cys His Leu Ser Ser Val Ala Phe Val Pro

	65	70	75	80
5	Cys Leu			
	<210> 72			
	<211> 12			
10	<212> PRT			
	<213> Artificial			
	<220>			
	<223> Partial sequences of GRP49			
15	<400> 72			
	His Phe Lys Glu Asp Leu Val Ser Leu Arg Lys Gln			
	1 5 10			
20	<210> 73			
	<211> 4			
	<212> PRT			
	<213> Artificial			
	<220>			
	<223> Partial sequences of GRP49			
25	<400> 73			
	Arg Lys Gln Thr			
	1			
30	<210> 74			
	<211> 7			
	<212> PRT			
	<213> Artificial			
35	<220>			
	<223> Partial sequences of GRP49			
	<400> 74			
	Thr Arg Ser Lys His Pro Ser			
40	1 5			
	<210> 75			
	<211> 4			
	<212> PRT			
45	<213> Artificial			
	<220>			
	<223> Partial sequences of GRP49			
	<400> 75			
50	Arg Ser Lys His			
	1			
	<210> 76			
	<211> 12			
55	<212> PRT			
	<213> Artificial			

EP 1 602 930 A2

5           <220>  
           <223> Partial sequences of GRP49  
           <400> 76  
           Asn Ser Asp Asp Val Glu Lys Gln Ser Cys Asp Ser  
           1                           5                           10  
  
 10           <210> 77  
           <211> 4  
           <212> PRT  
           <213> Artificial  
  
 15           <220>  
           <223> Partial sequences of GRP49  
           <400> 77  
           Asn Ser Asp Asp  
           1  
  
 20           <210> 78  
           <211> 5  
           <212> PRT  
           <213> Artificial  
  
 25           <220>  
           <223> Partial sequences of GRP49  
           <400> 78  
           Gln Ser Cys Asp Ser  
           1                           5  
  
 30           <210> 79  
           <211> 9  
           <212> PRT  
           <213> Artificial  
  
 35           <220>  
           <223> Partial sequences of GRP49  
           <400> 79  
  
 40           Leu Pro Pro Ser Ser Val Pro Ser Pro  
           1                           5  
  
 45           <210> 80  
           <211> 4  
           <212> PRT  
           <213> Artificial  
  
 50           <220>  
           <223> Partial sequences of GRP49  
           <400> 80  
           Pro Pro Ser Ser  
           1  
  
 55           <210> 81  
           <211> 1750  
           <212> DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Partial sequences of GRP49

&lt;400&gt; 81

	atggacacct cccggctcgg tgtgctcctg tccttgccctg tgctgctgca gctggcgacc	60
	gggggcagct ctcccaggtc tgggtgtgtt ctgaggggct gcccacaca ctgtcattgc	120
10	gagcccgacg gcaggatgtt gtcagggtg gactgctccg acctggggct ctcggagctg	180
	ccttccaacc tcagcgtctt cacctcctac ctagacctca gtatgaacaa catcagtcag	240
	ctgctccga atccccctgcc cagtctccgc ttctggagg agttacgtct tgcgggaaac	300
15	gctctgacat acattcccaa gggagcattc actggccttt acagtcttaa agttcttatg	360
	ctgcagaata atcagctaag acacgtaccc acagaagctc tgcagaattt gcgaagcctt	420
	caatccctgc gtctggatgc taaccacatc agctatgtgc cccaagctg tttcagtggc	480
20	ctgcattccc tgaggcacct gtggctggat gacaatgcgt taacagaaat cccgtccag	540
	gcttttagaa gtttatcggc attgcaagcc atgaccttg ccctgaacaa aatacaccac	600
	ataccagact atgcctttg aaacctctcc agcttggtag ttctacatct ccataacaat	660
25	agaatccact ccttgggaaa gaaatgcttt gatgggctcc acagcctaga gactttagat	720
	ttaaattaca ataacctga tgaattcccc actgcaatta ggacactctc caaccttaaa	780
	gaactaggat ttcatagcaa caatatcagg tcgatactg agaaagcatt tgtaggcaac	840
30	ccttctctta ttacaatata tttctatgac aatcccatcc aatttggttg gagatctgct	900
	tttcaacatt tacctgaact aagaacactg actctgaatg gtgcctcaca aataactgaa	960
	tttctgatt taactggaac tgcaaacctg gagagtctga ctttaactgg agcacagatc	1020
35	tcattctctc ctcaaaccgt ctgcaatcag ttacctaatc tccaagtgt agatctgtct	1080
	tacaacctat tagaagattt acccagtttt tcagtctgcc aaaagcttca gaaaattgac	1140
	ctaagacata atgaaatcta cgaaattaaa gttgacactt tccagcagtt gcttagcctc	1200
40	cgatcgctga atttggttg gaacaaaatt gctattattc accccaatgc attttccact	1260
	ttgccatccc taataaagct ggacctatcg tccaacctcc tgtcgtcttt tcctataact	1320
	gggttacatg gtttaactca cttaaaatta acaggaaatc atgccttaca gagcttgata	1380
	tcattctgaaa actttccaga actcaagggt atagaaatgc cttatgctta ccagtgtgt	1440
45	gcatttgag tgtgtgagaa tgcctataag atttctaatac aatggaataa aggtgacaac	1500
	agcagtatgg acgaccttca taagaaagat gctggaatgt ttcaggctca agatgaacgt	1560
	gacctgaag atttctgct tgactttgag gaagacctga aagcccttca ttcagtgcag	1620
50	tgttcacctt cccagggccc cttcaaacct tgtgaacacc tgcttgatgg ctggctgac	1680
	agaattggag tgtggaccat agcagttctg gcacttactt gtaatgcttt ggtgacttca	1740
	acagttttca	1750

&lt;210&gt; 82

EP 1 602 930 A2

<211> 907  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

5 <220>  
 <223> partial sequences of GRP49

<400> 82

10 Met Asp Thr Ser Arg Leu Gly Val Leu Leu Ser Leu Pro Val Leu Leu  
 1 5 10 15

Gln Leu Ala Thr Gly Gly Ser Ser Pro Arg Ser Gly Val Leu Leu Arg  
 20 25 30

15 Gly Cys Pro Thr His Cys His Cys Glu Pro Asp Gly Arg Met Leu Leu  
 35 40 45

20 Arg Val Asp Cys Ser Asp Leu Gly Leu Ser Glu Leu Pro Ser Asn Leu  
 50 55 60

Ser Val Phe Thr Ser Tyr Leu Asp Leu Ser Met Asn Asn Ile Ser Gln  
 65 70 75 80

25 Leu Leu Pro Asn Pro Leu Pro Ser Leu Arg Phe Leu Glu Glu Leu Arg  
 85 90 95

30 Leu Ala Gly Asn Ala Leu Thr Tyr Ile Pro Lys Gly Ala Phe Thr Gly  
 100 105 110

Leu Tyr Ser Leu Lys Val Leu Met Leu Gln Asn Asn Gln Leu Arg His  
 115 120 125

35 Val Pro Thr Glu Ala Leu Gln Asn Leu Arg Ser Leu Gln Ser Leu Arg  
 130 135 140

40 Leu Asp Ala Asn His Ile Ser Tyr Val Pro Pro Ser Cys Phe Ser Gly  
 145 150 155 160

Leu His Ser Leu Arg His Leu Trp Leu Asp Asp Asn Ala Leu Thr Glu  
 165 170 175

45 Ile Pro Val Gln Ala Phe Arg Ser Leu Ser Ala Leu Gln Ala Met Thr  
 180 185 190

Leu Ala Leu Asn Lys Ile His His Ile Pro Asp Tyr Ala Phe Gly Asn  
 195 200 205

50 Leu Ser Ser Leu Val Val Leu His Leu His Asn Asn Arg Ile His Ser  
 210 215 220

55 Leu Gly Lys Lys Cys Phe Asp Gly Leu His Ser Leu Glu Thr Leu Asp  
 225 230 235 240

EP 1 602 930 A2

Leu Asn Tyr Asn Asn Leu Asp Glu Phe Pro Thr Ala Ile Arg Thr Leu  
245 250 255

5 Ser Asn Leu Lys Glu Leu Gly Phe His Ser Asn Asn Ile Arg Ser Ile  
260 265 270

Pro Glu Lys Ala Phe Val Gly Asn Pro Ser Leu Ile Thr Ile His Phe  
10 275 280 285

Tyr Asp Asn Pro Ile Gln Phe Val Gly Arg Ser Ala Phe Gln His Leu  
290 295 300

15 Pro Glu Leu Arg Thr Leu Thr Leu Asn Gly Ala Ser Gln Ile Thr Glu  
305 310 315 320

Phe Pro Asp Leu Thr Gly Thr Ala Asn Leu Glu Ser Leu Thr Leu Thr  
20 325 330 335

Gly Ala Gln Ile Ser Ser Leu Pro Gln Thr Val Cys Asn Gln Leu Pro  
340 345 350

25 Asn Leu Gln Val Leu Asp Leu Ser Tyr Asn Leu Leu Glu Asp Leu Pro  
355 360 365

Ser Phe Ser Val Cys Gln Lys Leu Gln Lys Ile Asp Leu Arg His Asn  
30 370 375 380

Glu Ile Tyr Glu Ile Lys Val Asp Thr Phe Gln Gln Leu Leu Ser Leu  
385 390 395 400

35 Arg Ser Leu Asn Leu Ala Trp Asn Lys Ile Ala Ile Ile His Pro Asn  
405 410 415

Ala Phe Ser Thr Leu Pro Ser Leu Ile Lys Leu Asp Leu Ser Ser Asn  
40 420 425 430

Leu Leu Ser Ser Phe Pro Ile Thr Gly Leu His Gly Leu Thr His Leu  
435 440 445

45 Lys Leu Thr Gly Asn His Ala Leu Gln Ser Leu Ile Ser Ser Glu Asn  
450 455 460

Phe Pro Glu Leu Lys Val Ile Glu Met Pro Tyr Ala Tyr Gln Cys Cys  
465 470 475 480

50 Ala Phe Gly Val Cys Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Ser Asn Gln Trp Asn  
485 490 495

55 Lys Gly Asp Asn Ser Ser Met Asp Asp Leu His Lys Lys Asp Ala Gly  
500 505 510

EP 1 602 930 A2

	Met	Phe	Gln	Ala	Gln	Asp	Glu	Arg	Asp	Leu	Glu	Asp	Phe	Leu	Leu	Asp
			515					520					525			
5	Phe	Glu	Glu	Asp	Leu	Lys	Ala	Leu	His	Ser	Val	Gln	Cys	Ser	Pro	Ser
		530					535					540				
	Pro	Gly	Pro	Phe	Lys	Pro	Cys	Glu	His	Leu	Leu	Asp	Gly	Trp	Leu	Ile
10		545				550					555					560
	Arg	Ile	Gly	Val	Trp	Thr	Ile	Ala	Val	Leu	Ala	Leu	Thr	Cys	Asn	Ala
					565						570				575	
15	Leu	Val	Thr	Ser	Thr	Val	Phe	Arg	Ser	Pro	Leu	Tyr	Ile	Ser	Pro	Ile
				580					585					590		
	Lys	Leu	Leu	Ile	Gly	Val	Ile	Ala	Ala	Val	Asn	Met	Leu	Thr	Gly	Val
20			595					600					605			
	Ser	Ser	Ala	Val	Leu	Ala	Gly	Val	Asp	Ala	Phe	Thr	Phe	Gly	Ser	Phe
			610				615					620				
25	Ala	Arg	His	Gly	Ala	Trp	Trp	Glu	Asn	Gly	Val	Gly	Cys	His	Val	Ile
						630					635					640
	Gly	Phe	Leu	Ser	Ile	Phe	Ala	Ser	Glu	Ser	Ser	Val	Phe	Leu	Leu	Thr
30					645					650					655	
	Leu	Ala	Ala	Leu	Glu	Arg	Gly	Phe	Ser	Val	Lys	Tyr	Ser	Ala	Lys	Phe
				660					665					670		
35	Glu	Thr	Lys	Ala	Pro	Phe	Ser	Ser	Leu	Lys	Val	Ile	Ile	Leu	Leu	Cys
			675					680					685			
	Ala	Leu	Leu	Ala	Leu	Thr	Met	Ala	Ala	Val	Pro	Leu	Leu	Gly	Gly	Ser
40			690				695					700				
	Lys	Tyr	Gly	Ala	Ser	Pro	Leu	Cys	Leu	Pro	Leu	Pro	Phe	Gly	Glu	Pro
		705				710					715					720
45	Ser	Thr	Met	Gly	Tyr	Met	Val	Ala	Leu	Ile	Leu	Leu	Asn	Ser	Leu	Cys
					725					730					735	
	Phe	Leu	Met	Met	Thr	Ile	Ala	Tyr	Thr	Lys	Leu	Tyr	Cys	Asn	Leu	Asp
50				740					745					750		
	Lys	Gly	Asp	Leu	Glu	Asn	Ile	Trp	Asp	Cys	Ser	Met	Val	Lys	His	Ile
			755					760					765			
55	Ala	Leu	Leu	Leu	Phe	Thr	Asn	Cys	Ile	Leu	Asn	Cys	Pro	Val	Ala	Phe
		770					775					780				



EP 1 602 930 A2

Leu Ser Phe Ser Ser Leu Ile Asn Leu Thr Phe Ile Ser Pro Glu Val  
785 790 795 800

5 Ile Lys Phe Ile Leu Leu Val Val Val Pro Leu Pro Ala Cys Leu Asn  
805 810 815

Pro Leu Leu Tyr Ile Leu Phe Asn Pro His Phe Lys Glu Asp Leu Val  
820 825 830

10 Ser Leu Arg Lys Gln Thr Tyr Val Trp Thr Arg Ser Lys His Pro Ser  
835 840 845

15 Leu Met Ser Ile Asn Ser Asp Asp Val Glu Lys Gln Ser Cys Asp Ser  
850 855 860

Thr Gln Ala Leu Val Thr Phe Thr Ser Ser Ser Ile Thr Tyr Asp Leu  
865 870 875 880

20 Pro Pro Ser Ser Val Pro Ser Pro Ala Tyr Pro Val Thr Glu Ser Cys  
885 890 895

25 His Leu Ser Ser Val Ala Phe Val Pro Cys Leu  
900 905

<210> 83  
<211> 1750  
30 <212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> Partial sequences of GRP49

35 <400> 83  
atggacacct cccggctcgg tgtgtctctg tccttgacctg tgctgctgca gctggcgacc 60  
gggggcagct ctcccagggtc tgggtgtgttg ctgagggggt gccccacaca ctgtcattgc 120  
gagcccgacg gcaggatggt gctcaggggtg gactgctccg acctgggggt ctcggagctg 180  
40 ccttccaacc tcagcgtctt cacctcctac ctagacctca gtatgaacaa catcagtcag 240  
ctgctcccga atcccctgcc cagtctccgc ttcctggagg agttacgtct tgcgggaaac 300  
gctctgacat acattcccaa gggagcattc actggccttt acagtcttaa agttcttatg 360  
45 ctgcagaata atcagctaag acacgtaccc acagaagctc tgcagaattt gcgaagcctt 420  
caatccctgc gtctggatgc taaccacatc agctatgtgc cccaagctg tttcagtggtc 480  
ctgcattccc tgaggcacct gtggctggat gacaatgcgt taacagaaat ccccgctccag 540  
50 gcttttagaa gtttatcggc attgcaagcc atgaccttgg ccctgaacaa aatacaccac 600  
ataccagact atgcctttgg aaacctctcc agcttggtag ttctacatct ccataacaat 660  
agaatccact cctggggaaa gaaatgcttt gatgggctcc acagcctaga gactttagat 720  
55 ttaaattaca ataaccttga tgaattcccc actgcaatta ggacactctc caaccttaaa 780

EP 1 602 930 A2

gaactaggat ttcatagcaa caatatcagg tcgatacctg agaaagcatt tgtaggcaac 840  
ccttctctta ttacaataca tttctatgac aatcccatcc aatttggttg gagatctgct 900  
5 tttcaacatt tacctgaact aagaacactg actctgaatg gtgcctcaca aataactgaa 960  
tttcttgatt taactggaac tgcaaacctg gagagtctga ctttaactgg agcacagatc 1020  
tcatctcttc ctcaaacctg ctgcaatcag ttacctaatac tccaagtgtg agatctgtct 1080  
10 tacaacctat tagaagattt acccagtttt tcagtctgcc aaaagcttca gaaaattgac 1140  
ctaagacata atgaaatcta cgaaattaaa gttgacactt tccagcagtt gcttagcctc 1200  
cgatcgtga atttggcttg gaacaaaatt gctattattc accccaatgc attttccact 1260  
15 ttgccatccc taataaagct ggacctatcg tccaacctcc tgctgtcttt tcctataact 1320  
gggttacatg gtttaactca cttaaaatta acaggaaatc atgccttaca gagcttgata 1380  
tcatctgaaa actttccaga actcaagggt atagaaatgc cttatgctta ccagtgtgt 1440  
20 gcatttgagg tgtgtgagaa tgcctataag atttctaatac aatggaataa aggtgacaac 1500  
agcagtatgg acgaccttca taagaaagat gctggaatgt ttcaggctca agatgaacgt 1560  
gaccttgaag atttctgtct tgactttgag gaagacctga aagcccttca ttcagtgcag 1620  
25 tgttcacctt cccagggccc cttcaaacc tgtgaacacc tgcttgatgg ctggctgatc 1680  
agaattggag tgtggaccat agcagttctg gcacttactt gtaatgcttt ggtgacttca 1740  
acagttttca 1750  
30 <210> 84  
<211> 907  
<212> PRT  
<213> Artificial  
<220>  
35 <223> Partial sequences of GRP49  
<400> 84  
Met Asp Thr Ser Arg Leu Gly Val Leu Leu Ser Leu Pro Val Leu Leu  
1 5 10 15  
40 Gln Leu Ala Thr Gly Gly Ser Ser Pro Arg Ser Gly Val Leu Leu Arg  
20 25 30  
45 Gly Cys Pro Thr His Cys His Cys Glu Pro Asp Gly Arg Met Leu Leu  
35 40 45  
50 Arg Val Asp Cys Ser Asp Leu Gly Leu Ser Glu Leu Pro Ser Asn Leu  
50 55 60  
55 Ser Val Phe Thr Ser Tyr Leu Asp Leu Ser Met Asn Asn Ile Ser Gln  
65 70 75 80  
Leu Leu Pro Asn Pro Leu Pro Ser Leu Arg Phe Leu Glu Glu Leu Arg  
85 90 95

EP 1 602 930 A2

Leu Ala Gly Asn Ala Leu Thr Tyr Ile Pro Lys Gly Ala Phe Thr Gly  
100 105 110

5 Leu Tyr Ser Leu Lys Val Leu Met Leu Gln Asn Asn Gln Leu Arg His  
115 120 125

10 Val Pro Thr Glu Ala Leu Gln Asn Leu Arg Ser Leu Gln Ser Leu Arg  
130 135 140

Leu Asp Ala Asn His Ile Ser Tyr Val Pro Pro Ser Cys Phe Ser Gly  
145 150 155 160

15 Leu His Ser Leu Arg His Leu Trp Leu Asp Asp Asn Ala Leu Thr Glu  
165 170 175

20 Ile Pro Val Gln Ala Phe Arg Ser Leu Ser Ala Leu Gln Ala Met Thr  
180 185 190

Leu Ala Leu Asn Lys Ile His His Ile Pro Asp Tyr Ala Phe Gly Asn  
195 200 205

25 Leu Ser Ser Leu Val Val Leu His Leu His Asn Asn Arg Ile His Ser  
210 215 220

30 Leu Gly Lys Lys Cys Phe Asp Gly Leu His Ser Leu Glu Thr Leu Asp  
225 230 235 240

Leu Asn Tyr Asn Asn Leu Asp Glu Phe Pro Thr Ala Ile Arg Thr Leu  
245 250 255

35 Ser Asn Leu Lys Glu Leu Gly Phe His Ser Asn Asn Ile Arg Ser Ile  
260 265 270

40 Pro Glu Lys Ala Phe Val Gly Asn Pro Ser Leu Ile Thr Ile His Phe  
275 280 285

Tyr Asp Asn Pro Ile Gln Phe Val Gly Arg Ser Ala Phe Gln His Leu  
290 295 300

45 Pro Glu Leu Arg Thr Leu Thr Leu Asn Gly Ala Ser Gln Ile Thr Glu  
305 310 315 320

Phe Pro Asp Leu Thr Gly Thr Ala Asn Leu Glu Ser Leu Thr Leu Thr  
325 330 335

50 Gly Ala Gln Ile Ser Ser Leu Pro Gln Thr Val Cys Asn Gln Leu Pro  
340 345 350

55 Asn Leu Gln Val Leu Asp Leu Ser Tyr Asn Leu Leu Glu Asp Leu Pro  
355 360 365

EP 1 602 930 A2

Ser Phe Ser Val Cys Gln Lys Leu Gln Lys Ile Asp Leu Arg His Asn  
370 375 380

5 Glu Ile Tyr Glu Ile Lys Val Asp Thr Phe Gln Gln Leu Leu Ser Leu  
385 390 395 400

Arg Ser Leu Asn Leu Ala Trp Asn Lys Ile Ala Ile Ile His Pro Asn  
10 405 410 415

Ala Phe Ser Thr Leu Pro Ser Leu Ile Lys Leu Asp Leu Ser Ser Asn  
420 425 430

15 Leu Leu Ser Ser Phe Pro Ile Thr Gly Leu His Gly Leu Thr His Leu  
435 440 445

Lys Leu Thr Gly Asn His Ala Leu Gln Ser Leu Ile Ser Ser Glu Asn  
20 450 455 460

Phe Pro Glu Leu Lys Val Ile Glu Met Pro Tyr Ala Tyr Gln Cys Cys  
465 470 475 480

25 Ala Phe Gly Val Cys Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Ser Asn Gln Trp Asn  
485 490 495

Lys Gly Asp Asn Ser Ser Met Asp Asp Leu His Lys Lys Asp Ala Gly  
30 500 505 510

Met Phe Gln Ala Gln Asp Glu Arg Asp Leu Glu Asp Phe Leu Leu Asp  
515 520 525

35 Phe Glu Glu Asp Leu Lys Ala Leu His Ser Val Gln Cys Ser Pro Ser  
530 535 540

Pro Gly Pro Phe Lys Pro Cys Glu His Leu Leu Asp Gly Trp Leu Ile  
40 545 550 555 560

Arg Ile Gly Val Trp Thr Ile Ala Ala Leu Ala Leu Thr Cys Asn Ala  
565 570 575

45 Leu Val Thr Ser Thr Val Phe Arg Ser Pro Leu Tyr Ile Ser Pro Ile  
580 585 590

Lys Leu Leu Ile Gly Val Ile Ala Ala Val Asn Met Leu Thr Gly Val  
50 595 600 605

Ser Ser Ala Val Leu Ala Gly Val Asp Ala Phe Thr Phe Gly Ser Phe  
610 615 620

55 Ala Arg His Gly Ala Trp Trp Glu Asn Gly Val Gly Cys His Val Ile  
625 630 635 640

EP 1 602 930 A2

Gly Phe Leu Ser Ile Phe Ala Ser Glu Ser Ser Val Phe Leu Leu Thr  
645 650 655

5' Leu Ala Ala Leu Glu Arg Gly Phe Ser Ala Lys Tyr Ser Ala Lys Phe  
660 665 670

Glu Thr Lys Ala Pro Phe Ser Ser Leu Lys Val Ile Ile Leu Leu Cys  
675 680 685

10 Ala Leu Leu Ala Leu Thr Met Ala Ala Val Pro Leu Leu Gly Gly Ser  
690 695 700

15 Lys Tyr Gly Ala Ser Pro Leu Cys Leu Pro Leu Pro Phe Gly Glu Pro  
705 710 715 720

Ser Thr Met Gly Tyr Met Val Ala Leu Ile Leu Leu Asn Ser Leu Cys  
725 730 735

20 Phe Leu Met Met Thr Ile Ala Tyr Thr Lys Leu Tyr Cys Asn Leu Asp  
740 745 750

25 Lys Gly Asp Leu Glu Asn Ile Trp Asp Cys Ser Met Val Lys His Ile  
755 760 765

Ala Leu Leu Leu Phe Thr Asn Cys Ile Leu Asn Cys Pro Val Ala Phe  
770 775 780

30 Leu Ser Phe Ser Ser Leu Ile Asn Leu Thr Phe Ile Ser Pro Glu Val  
785 790 795 800

Ile Lys Phe Ile Leu Leu Val Val Val Pro Leu Pro Ala Cys Leu Asn  
805 810 815

Pro Leu Leu Tyr Ile Leu Phe Asn Pro His Phe Lys Glu Asp Leu Val  
820 825 830

40 Ser Leu Arg Lys Gln Thr Tyr Val Trp Thr Arg Ser Lys His Pro Ser  
835 840 845

45 Leu Met Ser Ile Asn Ser Asp Asp Val Glu Lys Gln Ser Cys Asp Ser  
850 855 860

Thr Gln Ala Leu Val Thr Phe Thr Ser Ser Ser Ile Thr Tyr Asp Leu  
865 870 875 880

50 Pro Pro Ser Ser Val Pro Ser Pro Ala Tyr Pro Val Thr Glu Ser Cys  
885 890 895

55 His Leu Ser Ser Val Ala Phe Val Pro Cys Leu  
900 905

SEQUENCE LISTING

5 <110> Hinzmann, Bernd  
 Stein, Anke  
 Staub, Eike  
 Heiden, Esmeralda  
 Klamann, Irina  
 Dahl, Edgar

10 <120> Verwendung von an GRP49 bindenden Substanzen zur Diagnose und  
 Behandlung von Krebs

<130> MET/DE/0329

15 <140> 04090322.1  
 <141> 2004-08-20

<150> DE 103 39 820.1  
 <151> 2003-08-22

20 <160> 84

<170> PatentIn version 3.3

25 <210> 1  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49

<400> 1

Cys Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Ser Asn Gln Trp Asn Lys Gly Asp  
 1 5 10 15

35

<210> 2  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 40 <213> Artificial

<220>  
 <223> Partial sequences of GRP49

45 <400> 2

Ile Asn Ser Asp Asp Val Glu Lys Gln Ser Cys  
 1 5 10

50 <210> 3  
 <211> 1605  
 <212> DNA  
 <213> Artificial

55 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49

EP 1 602 930 A2

<400> 3

ggcagctctc ccagggtctgg tgtgtgtctg aggggctgcc ccacacactg tcattgcgag 60  
5 cccgacggca ggaigtgtct cagggtggac tgcctcgacc tggggtctc ggagctgct 120  
tccaaccica gcgtcttcac ctctaccta gacctcagta tgaacaacat cagtcagctg 180  
ctcccgaaic cctgcccag tctcgcttc ctggaggagt tacgtcttc gggaaacgct 240  
10 ctgacataca ttccaaggg agcattcact ggcctttaca gtctaaagt tctatgctg 300  
cagaataatc agctaagaca cgtaccaca gaagctctgc agaatttgcg aagcctcaa 360  
tccctgcgtc tggatgctaa ccacatcagc tatgtgccc caagctgtt cagtgccctg 420  
15 cattccctga ggcacctgtg gcctgatgac aatgcgttaa cagaaatccc cgtccaggct 480  
tttagaagt tctcggtcatt gcaagccatg acctggccc tgaacaaaat acaccacata 540  
ccagactatg cctttgaaa cctctccagc ttggtagttc tacatctcca taacaataga 600  
20 atccactccc tgggaaagaa atgcttgat gggctccaca gcctagagac tttagattta 660  
aattacaata acctgatga attccctcact gcaattagga cactctcaa ccttaaagaa 720  
25 ctaggatttc atagcaaca tatcaggtcg atacctgaga aagcattgt aggaaccct 780  
tctctatta caatacatt ctatgacaat cccatccaat ttgtgggag atctgcttt 840  
caacatttc ctgaactaag aacactgact ctgaatggg cctcacaat aactgaatt 900  
30 cctgatttaa ctggaactgc aaacctggag agtctgact taactggagc acagatcica 960  
tctctctc aaacctctg caatcagta cctaactcc aagtctaga tctgtctac 1020  
aacctattag aagatttacc cagttttca gtctgcaaa agctcagaa aattgaccta 1080  
35 agacalaatg aaatctacga aattaaagt gacacttcc agcagttgct tagcctccga 1140  
tcgtgaatt tggcttgaa caaaattgt attattcacc ccaatgcatt ttccacttg 1200  
40 ccatccctaa taaagctgga cctatctcc aacctctgt cgtctttcc tataactggg 1260  
ttacatggt taactcact aaaattaaca ggaaatcatg ccttacagag ctgatatca 1320  
tctgaaaact ttccagaact caagggtata gaaatgcct atgcttacca gtgctgtga 1380  
45 ttggagtgt gtgagaatgc ctataagatt tctaataat ggaataaagg tgacaacagc 1440  
agtatggag acctcataa gaaagatgt ggaatgttc aggtcaaga tgaacgtgac 1500  
cttgaagatt tctgcttga cttgaggaa gacctgaaag ccttcattc agtcaggtg 1560  
50 tcacctccc caggccctt caaacctgt gaacacctgc ttgat 1605

<210> 4

<211> 535

<212> PRT

<213> Artificial

EP 1 602 930 A2

<220>

<223> Partial sequences of GRP49

<400> 4

5

Gly Ser Ser Pro Arg Ser Gly Val Leu Leu Arg Gly Cys Pro Thr His  
1 5 10 15

10

Cys His Cys Glu Pro Asp Gly Arg Met Leu Leu Arg Val Asp Cys Ser  
20 25 30

15

Asp Leu Gly Leu Ser Glu Leu Pro Ser Asn Leu Ser Val Phe Thr Ser  
35 40 45

20

Tyr Leu Asp Leu Ser Met Asn Asn Ile Ser Gln Leu Leu Pro Asn Pro  
50 55 60

Leu Pro Ser Leu Arg Phe Leu Glu Glu Leu Arg Leu Ala Gly Asn Ala  
65 70 75 80

25

Leu Thr Tyr Ile Pro Lys Gly Ala Phe Thr Gly Leu Tyr Ser Leu Lys  
85 90 95

30

Val Leu Met Leu Gln Asn Asn Gln Leu Arg His Val Pro Thr Glu Ala  
100 105 110

Leu Gln Asn Leu Arg Ser Leu Gln Ser Leu Arg Leu Asp Ala Asn His  
115 120 125

35

Ile Ser Tyr Val Pro Pro Ser Cys Phe Ser Gly Leu His Ser Leu Arg  
130 135 140

40

His Leu Trp Leu Asp Asp Asn Ala Leu Thr Glu Ile Pro Val Gln Ala  
145 150 155 160

45

Phe Arg Ser Leu Ser Ala Leu Gln Ala Met Thr Leu Ala Leu Asn Lys  
165 170 175

Ile His His Ile Pro Asp Tyr Ala Phe Gly Asn Leu Ser Ser Leu Val  
180 185 190

50

Val Leu His Leu His Asn Asn Arg Ile His Ser Leu Gly Lys Lys Cys  
195 200 205

55

Phe Asp Gly Leu His Ser Leu Glu Thr Leu Asp Leu Asn Tyr Asn Asn  
210 215 220



EP 1 602 930 A2

5 Leu Asp Glu Phe Pro Thr Ala Ile Arg Thr Leu Ser Asn Leu Lys Glu  
 225 230 235 240  
 Leu Gly Phe His Ser Asn Asn Ile Arg Ser Ile Pro Glu Lys Ala Phe  
 245 250 255  
 10 Val Gly Asn Pro Ser Leu Ile Thr Ile His Phe Tyr Asp Asn Pro Ile  
 260 265 270  
 Gln Phe Val Gly Arg Ser Ala Phe Gln His Leu Pro Glu Leu Arg Thr  
 275 280 285  
 15 Leu Thr Leu Asn Gly Ala Ser Gln Ile Thr Glu Phe Pro Asp Leu Thr  
 290 295 300  
 Gly Thr Ala Asn Leu Glu Ser Leu Thr Leu Thr Gly Ala Gln Ile Ser  
 305 310 315 320  
 Ser Leu Pro Gln Thr Val Cys Asn Gln Leu Pro Asn Leu Gln Val Leu  
 325 330 335  
 Asp Leu Ser Tyr Asn Leu Leu Glu Asp Leu Pro Ser Phe Ser Val Cys  
 340 345 350  
 30 Gln Lys Leu Gln Lys Ile Asp Leu Arg His Asn Glu Ile Tyr Glu Ile  
 355 360 365  
 Lys Val Asp Thr Phe Gln Gln Leu Leu Ser Leu Arg Ser Leu Asn Leu  
 370 375 380  
 Ala Trp Asn Lys Ile Ala Ile Ile His Pro Asn Ala Phe Ser Thr Leu  
 385 390 395 400  
 40 Pro Ser Leu Ile Lys Leu Asp Leu Ser Ser Asn Leu Leu Ser Ser Phe  
 405 410 415  
 Pro Ile Thr Gly Leu His Gly Leu Thr His Leu Lys Leu Thr Gly Asn  
 420 425 430  
 His Ala Leu Gln Ser Leu Ile Ser Ser Glu Asn Phe Pro Glu Leu Lys  
 435 440 445  
 50 Val Ile Glu Met Pro Tyr Ala Tyr Gln Cys Cys Ala Phe Gly Val Cys  
 450 455 460  
 55 Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Ser Asn Gln Trp Asn Lys Gly Asp Asn Ser

EP 1 602 930 A2

	465	470	475	480
5	Ser Met Asp Asp Leu His Lys Lys Asp Ala Gly Met Phe Gln Ala Gln			
		485	490	495
10	Asp Glu Arg Asp Leu Glu Asp Phe Leu Leu Asp Phe Glu Glu Asp Leu			
		500	505	510
15	Lys Ala Leu His Ser Val Gln Cys Ser Pro Ser Pro Gly Pro Phe Lys			
		515	520	525
20	Pro Cys Glu His Leu Leu Asp			
		530	535	
25	<210> 5			
	<211> 9			
	<212> PRT			
	<213> Artificial			
30	<220>			
	<223> Partial sequences of GRP49			
	<400> 5			
	Gly Ser Ser Pro Arg Ser Gly Val Leu			
	1	5		
35	<210> 6			
	<211> 4			
	<212> PRT			
	<213> Artificial			
40	<220>			
	<223> Partial sequences of GRP49			
	<400> 6			
	Ser Ser Pro Arg			
	1			
45	<210> 7			
	<211> 5			
	<212> PRT			
	<213> Artificial			
50	<220>			
	<223> Partial sequences of GRP49			
	<400> 7			
55	Gly Cys Pro Thr His			
	1	5		

5  
 <210> 8  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 8  
 His Cys Glu Pro Asp Gly Arg Met  
 1 5

10  
 <210> 9  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 9  
 Glu Pro Asp Gly Arg Met  
 1 5

15  
 <210> 10  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 10  
 Glu Pro Asp Gly  
 1

20  
 <210> 11  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 11  
 Val Asp Cys Ser Asp Leu Gly Leu Ser Glu Leu Pro Ser Asn Leu Ser  
 1 5 10 15

25  
 <210> 12  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 5 <400> 12  
 Asp Leu Gly Leu Ser Glu Leu Pro Ser  
 1 5  
 10 <210> 13  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 15 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 13  
 20 Asp Leu Gly Leu Ser Glu Leu  
 1 5  
 25 <210> 14  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 30 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 14  
 Gln Asn Asn Gln Leu Arg His Val Pro Thr  
 1 5 10  
 35 <210> 15  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 40 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 15  
 45 Gln Asn Asn Gln Leu  
 1 5  
 50 <210> 16  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 55 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 16

Asn Gln Leu Arg  
1

5

<210> 17  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

10

<220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
  
<400> 17

15

Arg His Val Pro Thr  
1 5

20

<210> 18  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial

25

<220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
  
<400> 18

Arg Leu Asp Ala Asn His  
1 5

30

<210> 19  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificial

35

<220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
  
<400> 19

40

Asp Asp Asn Ala Leu Thr Glu Ile  
1 5

45

<210> 20  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

50

<220>  
<223> Partial sequences of GRP49  
  
<400> 20

Asp Asn Ala Leu  
1

55

<210> 21

5  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 21  
 10 His Asn Asn Arg Ile His Ser Leu Gly Lys Lys Cys Phe Asp Gly  
 1 5 10 15  
 <210> 22  
 15 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 20 <400> 22  
 His Asn Asn Arg Ile His Ser Leu Gly  
 1 5  
 25 <210> 23  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 30 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 23  
 35 Leu Gly Lys Lys Cys Phe  
 1 5  
 40 <210> 24  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 45 <400> 24  
 Tyr Asn Asn Leu Asp Glu Phe Pro Thr Ala  
 1 5 10  
 50 <210> 25  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 55 <220>

<223> Partial sequences of GRP49

<400> 25

5

Tyr Asn Asn Leu Asp Glu Phe  
1 5

<210> 26

10

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15

<223> Partial sequences of GRP49

<400> 26

Asn Leu Asp Glu Phe  
1 5

20

<210> 27

<211> 10

<212> PRT

25

<213> Artificial

<220>

<223> Partial sequences of GRP49

<400> 27

30

Thr Leu Ser Asn Leu Lys Glu Leu Gly Phe  
1 5 10

<210> 28

35

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

40

<223> Partial sequences of GRP49

<400> 28

Ser Asn Leu Lys  
1

45

<210> 29

<211> 9

<212> PRT

50

<213> Artificial

<220>

<223> Partial sequences of GRP49

<400> 29

55

Ser Asn Asn Ile Arg Ser Ile Pro Glu

	1	5	
5			<210> 30 <211> 7 <212> PRT <213> Artificial
10			<220> <223> Partial sequences of GRP49  <400> 30  Ser Asn Asn Ile Arg Ser Ile 1 5
15			
20			<210> 31 <211> 4 <212> PRT <213> Artificial
25			<220> <223> Partial sequences of GRP49  <400> 31  Asn Asn Ile Arg 1
30			
35			<210> 32 <211> 5 <212> PRT <213> Artificial
40			<220> <223> Partial sequences of GRP49  <400> 32  Asn Ile Arg Ser Ile 1 5
45			
50			<210> 33 <211> 5 <212> PRT <213> Artificial
55			<220> <223> Partial sequences of GRP49  <400> 33  Tyr Asp Asn Pro Ile 1 5



5      <212> PRT  
       <213> Artificial  
       <220>  
       <223> Partial sequences of GRP49  
       <400> 34  
 10      Pro Glu Arg Leu  
       1  
       <210> 35  
       <211> 5  
 15      <212> PRT  
       <213> Artificial  
       <220>  
       <223> Partial sequences of GRP49  
 20      <400> 35  
       Gly Ala Ser Gln Ile  
       1            5  
 25      <210> 36  
       <211> 6  
       <212> PRT  
       <213> Artificial  
 30      <220>  
       <223> Partial sequences of GRP49  
       <400> 36  
 35      Phe Pro Asp Leu Thr Gly  
       1            5  
       <210> 37  
       <211> 4  
 40      <212> PRT  
       <213> Artificial  
       <220>  
       <223> Partial sequences of GRP49  
 45      <400> 37  
       Phe Pro Asp Leu  
       1  
 50      <210> 38  
       <211> 4  
       <212> PRT  
       <213> Artificial  
 55      <220>  
       <223> Partial sequences of GRP49

5                   <400> 38  
                   Asp Leu Thr Gly  
                   1  
  
 10                  <210> 39  
                   <211> 5  
                   <212> PRT  
                   <213> Artificial  
  
                   <220>  
                   <223> Partial sequences of GRP49  
  
 15                  <400> 39  
  
                   Glu Asp Leu Pro Ser  
                   1               5  
  
 20                  <210> 40  
                   <211> 9  
                   <212> PRT  
                   <213> Artificial  
  
 25                  <220>  
                   <223> Partial sequences of GRP49  
  
                   <400> 40  
  
 30                  Lys Leu Gln Lys Ile Asp Leu Arg His  
                   1               5  
  
 35                  <210> 41  
                   <211> 7  
                   <212> PRT  
                   <213> Artificial  
  
                   <220>  
                   <223> Partial sequences of GRP49  
  
 40                  <400> 41  
  
                   Tyr Glu Ile Lys Val Asp Thr  
                   1               5  
  
 45                  <210> 42  
                   <211> 4  
                   <212> PRT  
                   <213> Artificial  
  
 50                  <220>  
                   <223> Partial sequences of GRP49  
  
                   <400> 42  
  
 55                  Asp Leu Ser Ser  
                   1

5       <210> 43  
       <211> 7  
       <212> PRT  
       <213> Artificial  
  
       <220>  
       <223> Partial sequences of GRP49  
  
 10       <400> 43  
  
       Ser Ser Glu Asn Phe Pro Glu  
       1           5  
  
 15       <210> 44  
       <211> 4  
       <212> PRT  
       <213> Artificial  
  
       <220>  
       <223> Partial sequences of GRP49  
  
 20       <400> 44  
  
       Glu Asn Phe Pro  
       1  
  
 25       <210> 45  
       <211> 5  
       <212> PRT  
       <213> Artificial  
  
       <220>  
       <223> Partial sequences of GRP49  
  
 30       <400> 45  
  
       Asn Ala Tyr Lys Ile  
       1           5  
  
 35       <210> 46  
       <211> 9  
       <212> PRT  
       <213> Artificial  
  
       <220>  
       <223> Partial sequences of GRP49  
  
 40       <400> 46  
  
       Trp Asn Lys Gly Asp Asn Ser Ser Met  
       1           5  
  
 45       <210> 47  
       <211> 5  
       <212> PRT  
  
 50       <210> 47  
       <211> 5  
       <212> PRT  
  
 55       <210> 47  
       <211> 5  
       <212> PRT

5      <213> Artificial  
       <220>  
       <223> Partial sequences of GRP49  
       <400> 47  
       Trp Asn Lys Gly Asp  
       1            5  
 10  
       <210> 48  
       <211> 7  
       <212> PRT  
 15      <213> Artificial  
       <220>  
       <223> Partial sequences of GRP49  
       <400> 48  
 20  
       Asp Leu His Lys Lys Asp Ala  
       1            5  
 25  
       <210> 49  
       <211> 8  
       <212> PRT  
       <213> Artificial  
 30  
       <220>  
       <223> Partial sequences of GRP49  
       <400> 49  
       Gln Asp Glu Arg Asp Leu Glu Asp  
 35      1            5  
       <210> 50  
       <211> 7  
       <212> PRT  
 40      <213> Artificial  
       <220>  
       <223> Partial sequences of GRP49  
 45  
       <400> 50  
       Phe Glu Glu Asp Leu Lys Ala  
       1            5  
 50  
       <210> 51  
       <211> 12  
       <212> PRT  
       <213> Artificial  
 55  
       <220>  
       <223> Partial sequences of GRP49

<400> 51  
 Pro Ser Pro Gly Pro Phe Lys Pro Cys Glu His Leu  
 5 1 5 10

<210> 52  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 10

<220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 15

<400> 52  
 Phe Lys Pro Cys Glu His Leu  
 1 5

<210> 53  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 20

<220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 25

<400> 53  
 Gly Pro Phe Lys  
 30 1

<210> 54  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 35

<220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 40

<400> 54  
 Arg Ser Pro Leu Tyr Ile Ser Pro Ile Lys  
 1 5 10

<210> 55  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 45

<220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 50

<400> 55  
 Thr Phe Gly Ser Phe Ala Arg His Gly Ala Trp Trp Glu Asn Gly Val  
 55 1 5 10 15

Gly Cys His Val  
20

5

<210> 56  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

10

<220>  
<223> Partial sequences of GRP49

<400> 56

15

Glu Asn Gly Val  
1

20

<210> 57  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

25

<220>  
<223> Partial sequences of GRP49

<400> 57

30

Ser Glu Ser Ser  
1

35

<210> 58  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial

40

<220>  
<223> Partial sequences of GRP49

<400> 58

Ala Leu Glu Arg Gly Phe Ser  
1 5

45

<210> 59  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Artificial

50

<220>  
<223> Partial sequences of GRP49

<400> 59

55

Phe Ser Val Lys Tyr Ser Ala Lys Phe Glu Thr Lys Ala Pro Phe Ser  
1 5 10 15

Ser

5  
 <210> 60  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 60

15  
 Ala Lys Phe Glu Thr Lys Ala Pro Phe  
 1 5

20  
 <210> 61  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

25  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 61

30  
 Gly Gly Ser Lys Tyr Gly Ala Ser Pro  
 1 5

35  
 <210> 62  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

40  
 Ser Lys Tyr Gly  
 1

45  
 <210> 63  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

50  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 63

55  
 Lys Tyr Gly Ala  
 1

<210> 64

5  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 64  
 10 Tyr Gly Ala Ser Pro Leu Cys Leu Pro Leu Pro Phe Gly Glu Pro Ser  
 1 5 10 15  
 Thr Met  
 15  
 <210> 65  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 20 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 65  
 25 Tyr Gly Ala Ser Pro  
 1 5  
 30 <210> 66  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 35 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 66  
 Phe Gly Glu Pro Ser Thr  
 40 1 5  
 <210> 67  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 45 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 67  
 50 Glu Pro Ser Thr  
 1  
 55 <210> 68  
 <211> 19



<212> PRT  
 <213> Artificial  
 5 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 68  
 10 Cys Asn Leu Asp Lys Gly Asp Leu Glu Asn Ile Trp Asp Leu Ser Met  
 1 5 10 15  
 Val Lys His  
 15  
 <210> 69  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 20 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 69  
 25 Leu Asp Lys Gly Asp Leu Glu Asn  
 1 5  
 <210> 70  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 30 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 35 <400> 70  
 Asp Lys Gly Asp Leu  
 1 5  
 40  
 <210> 71  
 <211> 82  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 45 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 71  
 50 His Phe Lys Glu Asp Leu Val Ser Leu Arg Lys Gln Thr Tyr Val Trp  
 1 5 10 15  
 55 Thr Arg Ser Lys His Pro Ser Leu Met Ser Ile Asn Ser Asp Asp Val  
 20 25 30

EP 1 602 930 A2

5      Glu Lys Gln Ser Cys Asp Ser Thr Gln Ala Leu Val Thr Phe Thr Ser  
            35              40              45

10      Ser Ser Ile Thr Tyr Asp Leu Pro Pro Ser Ser Val Pro Ser Pro Ala  
            50              55              60

15      Tyr Pro Val Thr Glu Ser Cys His Leu Ser Ser Val Ala Phe Val Pro  
            65              70              75              80

20      Cys Leu

25      <210> 72  
            <211> 12  
            <212> PRT  
            <213> Artificial

30      <220>  
            <223> Partial sequences of GRP49

35      <400> 72

40      His Phe Lys Glu Asp Leu Val Ser Leu Arg Lys Gln  
            1              5              10

45      <210> 73  
            <211> 4  
            <212> PRT  
            <213> Artificial

50      <220>  
            <223> Partial sequences of GRP49

55      <400> 73

60      Arg Lys Gln Thr  
            1

65      <210> 74  
            <211> 7  
            <212> PRT  
            <213> Artificial

70      <220>  
            <223> Partial sequences of GRP49

75      <400> 74

80      Thr Arg Ser Lys His Pro Ser  
            1              5

85      <210> 75  
            <211> 4

<212> PRT  
 <213> Artificial  
 5 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 75  
 10 Arg Ser Lys His  
 1  
 <210> 76  
 <211> 12  
 15 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 20 <400> 76  
 Asn Ser Asp Asp Val Glu Lys Gln Ser Cys Asp Ser  
 1 5 10  
 25 <210> 77  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 30 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 77  
 35 Asn Ser Asp Asp  
 1  
 <210> 78  
 <211> 5  
 40 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 45 <400> 78  
 Gln Ser Cys Asp Ser  
 1 5  
 50 <210> 79  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 55 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49

&lt;400&gt; 79

Leu Pro Pro Ser Ser Val Pro Ser Pro  
 1 5

&lt;210&gt; 80

&lt;211&gt; 4

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Partial sequences of GRP49

&lt;400&gt; 80

Pro Pro Ser Ser  
 1

&lt;210&gt; 81

&lt;211&gt; 1750

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Partial sequences of GRP49

&lt;400&gt; 81

atggacacct cccggctcgg tgtgctcctg tccttgccctg tgctgctgca gctggcgacc 60

gggggcagct ctcccaggct tgggtgttg ctgaggggct gcccacaca ctgcattgc 120

gagcccgacg gcaggatgtt gctcagggct gactgctccg acctggggct ctcggagctg 180

ccttccaacc tcagcgtctt cacctcctac ctgacctca gtagaaca caatcagtcag 240

ctgctccga atccctgcc cagctccgc ttctggagg agttacgtct tgcgggaaac 300

gctctgacat acattccaa gggagcattc actggcctt acagtctaa agttctatg 360

ctgcagaata atcagctaag acacgtaccc acagaagctc tgcagaattt gcgaagcctt 420

caatccctgc gctcggatgc taaccacatc agctatgtc cccaagctg tttagtggc 480

ctgcattccc tgaggcacct gtggctggat gacaatgct taacagaaat cccgtccag 540

gcttttagaa gttatcggc attgcaagcc atgacctgg ccctgaaca aatacaccac 600

ataccagact atgccttgg aaacctctc agcttgtag ttctacatc ccataacaat 660

agaatccact cctgggaaa gaaatgctt gatgggctcc acagcctaga gacttagat 720

ttaaattaca ataacttga tgaattccc actgcaatta ggacactct caacctaaa 780

gaactaggat ttatagcaa caatatcagg tcatacctg agaaagcatt ttaggcaac 840

ccttctcta ttacaalaca ttctatgac aatcccatcc aattgttg gagatctgt 900

tttaacatt taccigaact aagaacacg actcgaatg gtgcctcaca aataactgaa 960

EP 1 602 930 A2

tttctgatt taactggaac tgcaaacctg gagagtctga cttaactgg agcacagatc 1020  
 5 tcatctcttc ctcaaaccgt ctgcaatcag ttacctaate tccaagtgt agatctgtct 1080  
 tacaacctat tagaagattt acccagtttt tcagttctgcc aaaagctca gaaaattgac 1140  
 ctaagacata atgaaatcta cgaaattaaa gttagacatt tccagcagtt gcttagcctc 1200  
 10 cgaatgcgtg atttggcttg gaacaaaatt gctattatt accccaatgc attttccact 1260  
 ttgccatccc taataaagct ggacatatcg tccaacctcc tgcgtcttt tctataact 1320  
 gggttacatg gttaactca cttaaaatta acaggaaatc atgccttaca gagcttgata 1380  
 15 tcatctgaaa actttccaga actcaagggt atagaaatgc ctatgctta ccagtgtgt 1440  
 gcatttgag tggtgagaa tgcctataag atttctaate aatggaataa aggtgacaac 1500  
 agcagtatgg acgacctca taagaagat gctggaatgt ttacaggctca agatgaacgt 1560  
 20 gacctgaag atttctgtct tgactttgag gaagacctga aagccctca ttacgtgcag 1620  
 tgttaccct cccaggccc ctcaaacc tgtaaacacc tgcctgatg ctggctgatc 1680  
 agaattggag tgggacct agcagttctg gcacttact gtaatgctt ggtgactca 1740  
 25 acagttttca 1750

30 <210> 82  
 <211> 907  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

35 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49  
 <400> 82

Met Asp Thr Ser Arg Leu Gly Val Leu Leu Ser Leu Pro Val Leu Leu  
 1 5 10 15

40 Gln Leu Ala Thr Gly Gly Ser Ser Pro Arg Ser Gly Val Leu Leu Arg  
 20 25 30

45 Gly Cys Pro Thr His Cys His Cys Glu Pro Asp Gly Arg Met Leu Leu  
 35 40 45

50 Arg Val Asp Cys Ser Asp Leu Gly Leu Ser Glu Leu Pro Ser Asn Leu  
 50 55 60

55 Ser Val Phe Thr Ser Tyr Leu Asp Leu Ser Met Asn Asn Ile Ser Gln  
 65 70 75 80

Leu Leu Pro Asn Pro Leu Pro Ser Leu Arg Phe Leu Glu Glu Leu Arg

EP 1 602 930 A2

	85	90	95		
5	Leu Ala Gly Asn Ala Leu Thr Tyr Ile Pro Lys Gly Ala Phe Thr Gly	100	105	110	
10	Leu Tyr Ser Leu Lys Val Leu Met Leu Gln Asn Asn Gln Leu Arg His	115	120	125	
15	Val Pro Thr Glu Ala Leu Gln Asn Leu Arg Ser Leu Gln Ser Leu Arg	130	135	140	
20	Leu His Ser Leu Arg His Leu Trp Leu Asp Asp Asn Ala Leu Thr Glu	145	150	155	160
25	Ile Pro Val Gln Ala Phe Arg Ser Leu Ser Ala Leu Gln Ala Met Thr	165	170	175	
30	Leu Ala Leu Asn Lys Ile His His Ile Pro Asp Tyr Ala Phe Gly Asn	180	185	190	
35	Leu Ser Ser Leu Val Val Leu His Leu His Asn Asn Arg Ile His Ser	195	200	205	
40	Leu Gly Lys Lys Cys Phe Asp Gly Leu His Ser Leu Glu Thr Leu Asp	210	215	220	
45	Leu Asn Tyr Asn Asn Leu Asp Glu Phe Pro Thr Ala Ile Arg Thr Leu	225	230	235	240
50	Ser Asn Leu Lys Glu Leu Gly Phe His Ser Asn Asn Ile Arg Ser Ile	245	250	255	
55	Pro Glu Lys Ala Phe Val Gly Asn Pro Ser Leu Ile Thr Ile His Phe	260	265	270	
	Tyr Asp Asn Pro Ile Gln Phe Val Gly Arg Ser Ala Phe Gln His Leu	275	280	285	
	Pro Glu Leu Arg Thr Leu Thr Leu Asn Gly Ala Ser Gln Ile Thr Glu	290	295	300	
	Phe Pro Asp Leu Thr Gly Thr Ala Asn Leu Glu Ser Leu Thr Leu Thr	305	310	315	320
		325	330	335	

EP 1 602 930 A2

Gly Ala Gln Ile Ser Ser Leu Pro Gln Thr Val Cys Asn Gln Leu Pro  
 340 345 350  
 5  
 Asn Leu Gln Val Leu Asp Leu Ser Tyr Asn Leu Leu Glu Asp Leu Pro  
 355 360 365  
 10  
 Ser Phe Ser Val Cys Gln Lys Leu Gln Lys Ile Asp Leu Arg His Asn  
 370 375 380  
 15  
 Glu Ile Tyr Glu Ile Lys Val Asp Thr Phe Gln Gln Leu Leu Ser Leu  
 385 390 395 400  
 Arg Ser Leu Asn Leu Ala Trp Asn Lys Ile Ala Ile Ile His Pro Asn  
 405 410 415  
 20  
 Ala Phe Ser Thr Leu Pro Ser Leu Ile Lys Leu Asp Leu Ser Ser Asn  
 420 425 430  
 25  
 Leu Leu Ser Ser Phe Pro Ile Thr Gly Leu His Gly Leu Thr His Leu  
 435 440 445  
 30  
 Lys Leu Thr Gly Asn His Ala Leu Gln Ser Leu Ile Ser Ser Glu Asn  
 450 455 460  
 Phe Pro Glu Leu Lys Val Ile Glu Met Pro Tyr Ala Tyr Gln Cys Cys  
 465 470 475 480  
 35  
 Ala Phe Gly Val Cys Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Ser Asn Gln Trp Asn  
 485 490 495  
 40  
 Lys Gly Asp Asn Ser Ser Met Asp Asp Leu His Lys Lys Asp Ala Gly  
 500 505 510  
 45  
 Met Phe Gln Ala Gln Asp Glu Arg Asp Leu Glu Asp Phe Leu Leu Asp  
 515 520 525  
 Phe Glu Glu Asp Leu Lys Ala Leu His Ser Val Gln Cys Ser Pro Ser  
 530 535 540  
 50  
 Pro Gly Pro Phe Lys Pro Cys Glu His Leu Leu Asp Gly Trp Leu Ile  
 545 550 555 560  
 55  
 Arg Ile Gly Val Trp Thr Ile Ala Val Leu Ala Leu Thr Cys Asn Ala  
 565 570 575

EP 1 602 930 A2

5      Leu Val Thr Ser Thr Val Phe Arg Ser Pro Leu Tyr Ile Ser Pro Ile  
             580              585              590

Lys Leu Leu Ile Gly Val Ile Ala Ala Val Asn Met Leu Thr Gly Val  
             595              600              605

10      Ser Ser Ala Val Leu Ala Gly Val Asp Ala Phe Thr Phe Gly Ser Phe  
             610              615              620

15      Ala Arg His Gly Ala Trp Trp Glu Asn Gly Val Gly Cys His Val Ile  
             625              630              635              640

Gly Phe Leu Ser Ile Phe Ala Ser Glu Ser Ser Val Phe Leu Leu Thr  
             645              650              655

20      Leu Ala Ala Leu Glu Arg Gly Phe Ser Val Lys Tyr Ser Ala Lys Phe  
             660              665              670

25      Glu Thr Lys Ala Pro Phe Ser Ser Leu Lys Val Ile Ile Leu Leu Cys  
             675              680              685

30      Ala Leu Leu Ala Leu Thr Met Ala Ala Val Pro Leu Leu Gly Gly Ser  
             690              695              700

Lys Tyr Gly Ala Ser Pro Leu Cys Leu Pro Leu Pro Phe Gly Glu Pro  
             705              710              715              720

35      Ser Thr Met Gly Tyr Met Val Ala Leu Ile Leu Leu Asn Ser Leu Cys  
             725              730              735

40      Phe Leu Met Met Thr Ile Ala Tyr Thr Lys Leu Tyr Cys Asn Leu Asp  
             740              745              750

45      Lys Gly Asp Leu Glu Asn Ile Trp Asp Cys Ser Met Val Lys His Ile  
             755              760              765

Ala Leu Leu Leu Phe Thr Asn Cys Ile Leu Asn Cys Pro Val Ala Phe  
             770              775              780

50      Leu Ser Phe Ser Ser Leu Ile Asn Leu Thr Phe Ile Ser Pro Glu Val  
             785              790              795              800

55      Ile Lys Phe Ile Leu Leu Val Val Val Pro Leu Pro Ala Cys Leu Asn  
             805              810              815



EP 1 602 930 A2

Pro Leu Leu Tyr Ile Leu Phe Asn Pro His Phe Lys Glu Asp Leu Val  
820 825 830

5

Ser Leu Arg Lys Gln Thr Tyr Val Trp Thr Arg Ser Lys His Pro Ser  
835 840 845

10

Leu Met Ser Ile Asn Ser Asp Asp Val Glu Lys Gln Ser Cys Asp Ser  
850 855 860

15

Thr Gln Ala Leu Val Thr Phe Thr Ser Ser Ser Ile Thr Tyr Asp Leu  
865 870 875 880

Pro Pro Ser Ser Val Pro Ser Pro Ala Tyr Pro Val Thr Glu Ser Cys  
885 890 895

20

His Leu Ser Ser Val Ala Phe Val Pro Cys Leu  
900 905

25

<210> 83  
<211> 1750  
<212> DNA  
<213> Artificial

30

<220>  
<223> Partial sequences of GRP49

35

<400> 83  
atggacacct cccggctcgg tgtgctcctg tccttgccctg tgctgctgca gctggcgacc 60  
gggggcagct ctcccaggct tgggtgttg ctgaggggct gcccacaca ctgtcattgc 120  
gagcccgacg gcaggatgtt gctcaggggt gactgctccg acctggggct ctggagctg 180  
ccttcaacc tcagcgtctt cacctcttac ctgacctca gtatgaaca catcagtcag 240  
ctgctccga atccccctgc cagctccgc ttctggagg agttacgtct tgcgggaaac 300  
gctctgacat acattccaa gggagcattc actggccttt acagtctaa agttctatg 360  
ctgcagaata atcagctaag acacgtaccc acagaagctc tgcagaattt gcgaagcctt 420  
caatccctgc gctcggatgc taaccacatc agctatgtc cccaagctg tttagtggc 480  
ctgcattccc tgaggcacct gtggctggat gacaatgcgt taacagaaat cccgtccag 540  
gcttttagaa gttatcggc attgaagcc atgacctgg cctgaacaa aataccac 600  
ataccagact atgccttgg aaacctctcc agcttgtag ttctacatct ccataacaat 660  
agaatccact cctgggaaa gaaatgctt gatgggcctc acagcctaga gactttagat 720  
ttaaattaca ataacctga tgaattcccc actgaatta ggacactctc caacctaaa 780  
gaactaggat ttcatagcaa caatatcagg tcgatacctg agaaagcatt ttaggcaac 840

55

EP 1 602 930 A2

5 cctctctta ttacaatata ttctatgac aatcccalcc aatttgttg gagatctgct . 900  
 ttcaacatt tacctgaact aagaacactg actctgaatg gtgcctcaca aataactgaa 960  
 ttctctgatt taactggaac tgcaaacctg gagagtctga cttaactgg agcacagatc 1020  
 tcatctcttc ctcaaaccgt ctgcaatcag ttacctaalc tccaagtgt agatctgtct 1080  
 10 tacaacctat tagaagattt acccagtttt tcagctgcc aaaagcttca gaaaattgac 1140  
 ctaagacata atgaaatcta cgaaattaa gtgacactt tccagcagtt gcttagcctc 1200  
 cgatcgctga atttgcttg gaacaaaatt gctattatc accccaatgc atttccact 1260  
 15 ttgccatccc taataaagct ggacatcag tccaacctcc tgcgtcttt tctataact 1320  
 gggttacatg gtttaactca cttaaatta acaggaaatc atgccttaca gagcttgata 1380  
 tcatctgaaa actttccaga actcaagggt atagaaatgc cttatgctta ccagtgtgt 1440  
 20 gcatttgag tggtgagaa tgcctataag atttctaalc aatggaataa aggtgacaac 1500  
 agcagtatgg acgaccttca taagaaagat gctggaatgt ttcaggctca agatgaacgt 1560  
 gacctgaag atttctgtct tgacttgag gaagacctga aagcccttca ttcagtgcag 1620  
 25 tgttcacct cccaggccc ctcaaacc tgtaaacacc tgcctgatgg ctggctgac 1680  
 agaattggag tgggacct agcagttctg gcacttactt gtaatgcttt ggtgacttca 1740  
 30 acagttttca 1750

35 <210> 84  
 <211> 907  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

40 <220>  
 <223> Partial sequences of GRP49

40 <400> 84

Met Asp Thr Ser Arg Leu Gly Val Leu Leu Ser Leu Pro Val Leu Leu  
 1 5 10 15

45 Gln Leu Ala Thr Gly Gly Ser Ser Pro Arg Ser Gly Val Leu Leu Arg  
 20 25 30

50 Gly Cys Pro Thr His Cys His Cys Glu Pro Asp Gly Arg Met Leu Leu  
 35 40 45

Arg Val Asp Cys Ser Asp Leu Gly Leu Ser Glu Leu Pro Ser Asn Leu  
 50 55 60

55 Ser Val Phe Thr Ser Tyr Leu Asp Leu Ser Met Asn Asn Ile Ser Gln  
 65 70 75 80

EP 1 602 930 A2

5 Leu Leu Pro Asn Pro Leu Pro Ser Leu Arg Phe Leu Glu Glu Leu Arg  
 85 90 95

10 Leu Ala Gly Asn Ala Leu Thr Tyr Ile Pro Lys Gly Ala Phe Thr Gly  
 100 105 110

15 Leu Tyr Ser Leu Lys Val Leu Met Leu Gln Asn Asn Gln Leu Arg His  
 115 120 125

20 Val Pro Thr Glu Ala Leu Gln Asn Leu Arg Ser Leu Gln Ser Leu Arg  
 130 135 140

25 Leu Asp Ala Asn His Ile Ser Tyr Val Pro Pro Ser Cys Phe Ser Gly  
 145 150 155 160

30 Leu His Ser Leu Arg His Leu Trp Leu Asp Asp Asn Ala Leu Thr Glu  
 165 170 175

35 Ile Pro Val Gln Ala Phe Arg Ser Leu Ser Ala Leu Gln Ala Met Thr  
 180 185 190

40 Leu Ala Leu Asn Lys Ile His His Ile Pro Asp Tyr Ala Phe Gly Asn  
 195 200 205

45 Leu Ser Ser Leu Val Val Leu His Leu His Asn Asn Arg Ile His Ser  
 210 215 220

50 Leu Gly Lys Lys Cys Phe Asp Gly Leu His Ser Leu Glu Thr Leu Asp  
 225 230 235 240

55 Leu Asn Tyr Asn Asn Leu Asp Glu Phe Pro Thr Ala Ile Arg Thr Leu  
 245 250 255

60 Ser Asn Leu Lys Glu Leu Gly Phe His Ser Asn Asn Ile Arg Ser Ile  
 260 265 270

65 Pro Glu Lys Ala Phe Val Gly Asn Pro Ser Leu Ile Thr Ile His Phe  
 275 280 285

70 Tyr Asp Asn Pro Ile Gln Phe Val Gly Arg Ser Ala Phe Gln His Leu  
 290 295 300

75 Pro Glu Leu Arg Thr Leu Thr Leu Asn Gly Ala Ser Gln Ile Thr Glu  
 305 310 315 320

EP 1 602 930 A2

5 Phe Pro Asp Leu Thr Gly Thr Ala Asn Leu Glu Ser Leu Thr Leu Thr  
 325 330 335  
 Gly Ala Gln Ile Ser Ser Leu Pro Gln Thr Val Cys Asn Gln Leu Pro  
 340 345 350  
 10 Asn Leu Gln Val Leu Asp Leu Ser Tyr Asn Leu Leu Glu Asp Leu Pro  
 355 360 365  
 Ser Phe Ser Val Cys Gln Lys Leu Gln Lys Ile Asp Leu Arg His Asn  
 15 370 375 380  
 Glu Ile Tyr Glu Ile Lys Val Asp Thr Phe Gln Gln Leu Leu Ser Leu  
 385 390 395 400  
 20 Arg Ser Leu Asn Leu Ala Trp Asn Lys Ile Ala Ile Ile His Pro Asn  
 405 410 415  
 Ala Phe Ser Thr Leu Pro Ser Leu Ile Lys Leu Asp Leu Ser Ser Asn  
 25 420 425 430  
 Leu Leu Ser Ser Phe Pro Ile Thr Gly Leu His Gly Leu Thr His Leu  
 30 435 440 445  
 Lys Leu Thr Gly Asn His Ala Leu Gln Ser Leu Ile Ser Ser Glu Asn  
 450 455 460  
 35 Phe Pro Glu Leu Lys Val Ile Glu Met Pro Tyr Ala Tyr Gln Cys Cys  
 465 470 475 480  
 Ala Phe Gly Val Cys Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Ser Asn Gln Trp Asn  
 40 485 490 495  
 Lys Gly Asp Asn Ser Ser Met Asp Asp Leu His Lys Lys Asp Ala Gly  
 45 500 505 510  
 Met Phe Gln Ala Gln Asp Glu Arg Asp Leu Glu Asp Phe Leu Leu Asp  
 515 520 525  
 50 Phe Glu Glu Asp Leu Lys Ala Leu His Ser Val Gln Cys Ser Pro Ser  
 530 535 540  
 Pro Gly Pro Phe Lys Pro Cys Glu His Leu Leu Asp Gly Trp Leu Ile  
 55 545 550 555 560

EP 1 602 930 A2

5 Arg Ile Gly Val Trp Thr Ile Ala Ala Leu Ala Leu Thr Cys Asn Ala  
 565 570 575  
 Leu Val Thr Ser Thr Val Phe Arg Ser Pro Leu Tyr Ile Ser Pro Ile  
 580 585 590  
 10 Lys Leu Leu Ile Gly Val Ile Ala Ala Val Asn Met Leu Thr Gly Val  
 595 600 605  
 Ser Ser Ala Val Leu Ala Gly Val Asp Ala Phe Thr Phe Gly Ser Phe  
 610 615 620  
 15 Ala Arg His Gly Ala Trp Trp Glu Asn Gly Val Gly Cys His Val Ile  
 625 630 635 640  
 20 Gly Phe Leu Ser Ile Phe Ala Ser Glu Ser Ser Val Phe Leu Leu Thr  
 645 650 655  
 Leu Ala Ala Leu Glu Arg Gly Phe Ser Ala Lys Tyr Ser Ala Lys Phe  
 660 665 670  
 25 Glu Thr Lys Ala Pro Phe Ser Ser Leu Lys Val Ile Ile Leu Leu Cys  
 675 680 685  
 30 Ala Leu Leu Ala Leu Thr Met Ala Ala Val Pro Leu Leu Gly Gly Ser  
 690 695 700  
 35 Lys Tyr Gly Ala Ser Pro Leu Cys Leu Pro Leu Pro Phe Gly Glu Pro  
 705 710 715 720  
 Ser Thr Met Gly Tyr Met Val Ala Leu Ile Leu Leu Asn Ser Leu Cys  
 725 730 735  
 40 Phe Leu Met Met Thr Ile Ala Tyr Thr Lys Leu Tyr Cys Asn Leu Asp  
 740 745 750  
 45 Lys Gly Asp Leu Glu Asn Ile Trp Asp Cys Ser Met Val Lys His Ile  
 755 760 765  
 Ala Leu Leu Leu Phe Thr Asn Cys Ile Leu Asn Cys Pro Val Ala Phe  
 770 775 780  
 50 Leu Ser Phe Ser Ser Leu Ile Asn Leu Thr Phe Ile Ser Pro Glu Val  
 785 790 795 800  
 55 Ile Lys Phe Ile Leu Leu Val Val Val Pro Leu Pro Ala Cys Leu Asn

EP 1 602 930 A2

5 Arg Ile Gly Val Trp Thr Ile Ala Ala Leu Ala Leu Thr Cys Asn Ala  
 565 570 575  
 Leu Val Thr Ser Thr Val Phe Arg Ser Pro Leu Tyr Ile Ser Pro Ile  
 580 585 590  
 10 Lys Leu Leu Ile Gly Val Ile Ala Ala Val Asn Met Leu Thr Gly Val  
 595 600 605  
 Ser Ser Ala Val Leu Ala Gly Val Asp Ala Phe Thr Phe Gly Ser Phe  
 610 615 620  
 15 Ala Arg His Gly Ala Trp Trp Glu Asn Gly Val Gly Cys His Val Ile  
 625 630 635 640  
 20 Gly Phe Leu Ser Ile Phe Ala Ser Glu Ser Ser Val Phe Leu Leu Thr  
 645 650 655  
 Leu Ala Ala Leu Glu Arg Gly Phe Ser Ala Lys Tyr Ser Ala Lys Phe  
 660 665 670  
 25 Glu Thr Lys Ala Pro Phe Ser Ser Leu Lys Val Ile Ile Leu Leu Cys  
 675 680 685  
 30 Ala Leu Leu Ala Leu Thr Met Ala Ala Val Pro Leu Leu Gly Gly Ser  
 690 695 700  
 35 Lys Tyr Gly Ala Ser Pro Leu Cys Leu Pro Leu Pro Phe Gly Glu Pro  
 705 710 715 720  
 Ser Thr Met Gly Tyr Met Val Ala Leu Ile Leu Leu Asn Ser Leu Cys  
 725 730 735  
 40 Phe Leu Met Met Thr Ile Ala Tyr Thr Lys Leu Tyr Cys Asn Leu Asp  
 740 745 750  
 45 Lys Gly Asp Leu Glu Asn Ile Trp Asp Cys Ser Met Val Lys His Ile  
 755 760 765  
 Ala Leu Leu Leu Phe Thr Asn Cys Ile Leu Asn Cys Pro Val Ala Phe  
 770 775 780  
 50 Leu Ser Phe Ser Ser Leu Ile Asn Leu Thr Phe Ile Ser Pro Glu Val  
 785 790 795 800  
 55 Ile Lys Phe Ile Leu Leu Val Val Val Pro Leu Pro Ala Cys Leu Asn

805                      810                      815

5                      Pro Leu Leu Tyr Ile Leu Phe Asn Pro His Phe Lys Glu Asp Leu Val  
                                 820                      825                      830

10                      Ser Leu Arg Lys Gln Thr Tyr Val Trp Thr Arg Ser Lys His Pro Ser  
                                 835                      840                      845

15                      Leu Met Ser Ile Asn Ser Asp Asp Val Glu Lys Gln Ser Cys Asp Ser  
                                 850                      855                      860

20                      Thr Gln Ala Leu Val Thr Phe Thr Ser Ser Ser Ile Thr Tyr Asp Leu  
                                 865                      870                      875                      880

25                      Pro Pro Ser Ser Val Pro Ser Pro Ala Tyr Pro Val Thr Glu Ser Cys  
                                 885                      890                      895

                                 His Leu Ser Ser Val Ala Phe Val Pro Cys Leu  
                                 900                      905

# Patentansprüche

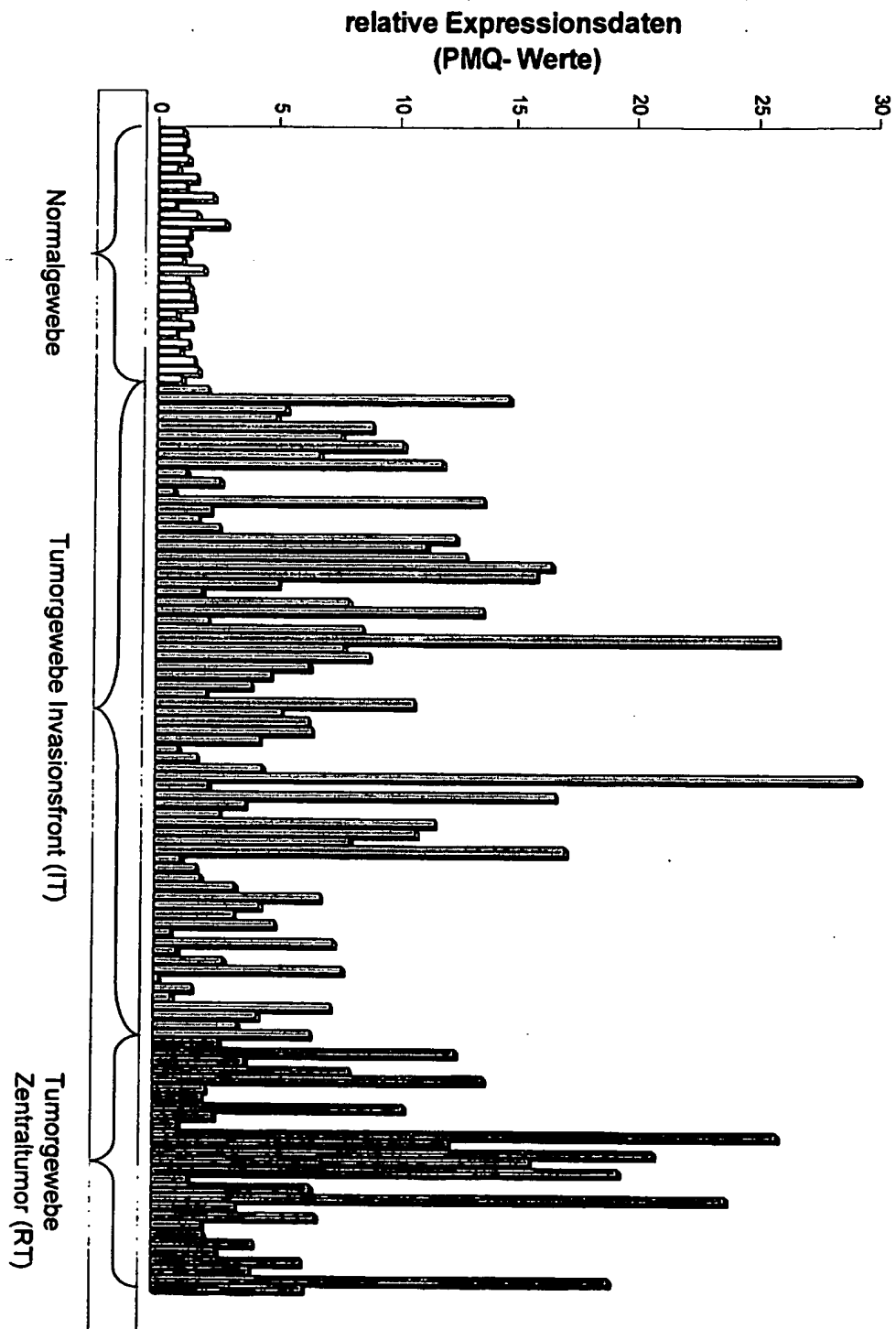
- 30
1. Verwendung einer für ein GPR49 Peptid oder Protein codierenden Nukleinsäure und/oder eines GPR49 Peptids oder Proteins zur Detektion von Krebs, insbesondere Colon-, Uterus- und/oder Rectumtumoren, oder zur Detektion eines Risikos der Erkrankung an einem solchen Tumor, wobei eine Gewebeprobe, insbesondere eine Colon-, Uterus- und/oder Rectum-Gewebeprobe, auf Transkription oder Übertranskription von GPR49 RNA oder auf Expression oder Überexpression eines GPR49 Proteins untersucht wird.
  - 35
  2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei eine an für GPR49 codierende Nukleinsäure oder eine an GPR49 Protein oder Peptid bindende Detektorsubstanz, vorzugsweise enthaltend eine Reportergruppe, verwendet wird, wobei Bindung besagter Nukleinsäure und/oder besagten Proteins oder Peptids an die Detektorsubstanz halbquantitativ oder quantitativ detektiert wird.
  - 40
  3. Verwendung einer GPR49 RNA oder eines GPR49 Proteins oder Peptids zum Screenen nach daran bindenden Substanzen, insbesondere nach prospektiven Wirkstoffen zur Inhibierung von besagter RNA oder besagtem Protein oder Peptid oder nach prospektiven Detektorsubstanzen, wobei eine prospektive Substanz oder eine Mischung solcher prospektiver Substanzen mit besagter RNA oder besagtem Protein oder Peptid kontaktiert wird, wobei mit einem Bindungsassay Bindungsereignisse festgestellt werden, und wobei eine bindende prospektive Substanz, ggf. nach Dekonvolutierung, selektiert wird.
  - 45
  4. Verwendung einer GPR49 inhibierenden oder daran bindenden Substanz zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Krebs, insbesondere von Colon-, Uterus- und/oder Rectumtumoren, oder zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Diagnose eines solchen Tumors oder zur Diagnose eines Progressionsrisikos eines solchen Tumors.
  - 50
  5. Verwendung nach Anspruch 4, wobei die Substanz ein Antikörper ist, welcher beispielsweise durch Immunisierung eines nicht-menschlichen Säugetiers mit einem GPR49 Peptid oder Protein, mit GPR49 transfizierten Zellen, oder einer hierfür für codierenden cDNA, erhältlich ist, oder ein Phage-Display Antikörper ist.
  - 55
  6. Verwendung nach Anspruch 4, wobei die Substanz eine Mimikriverbindung eines Antikörpers gegen ein GPR49

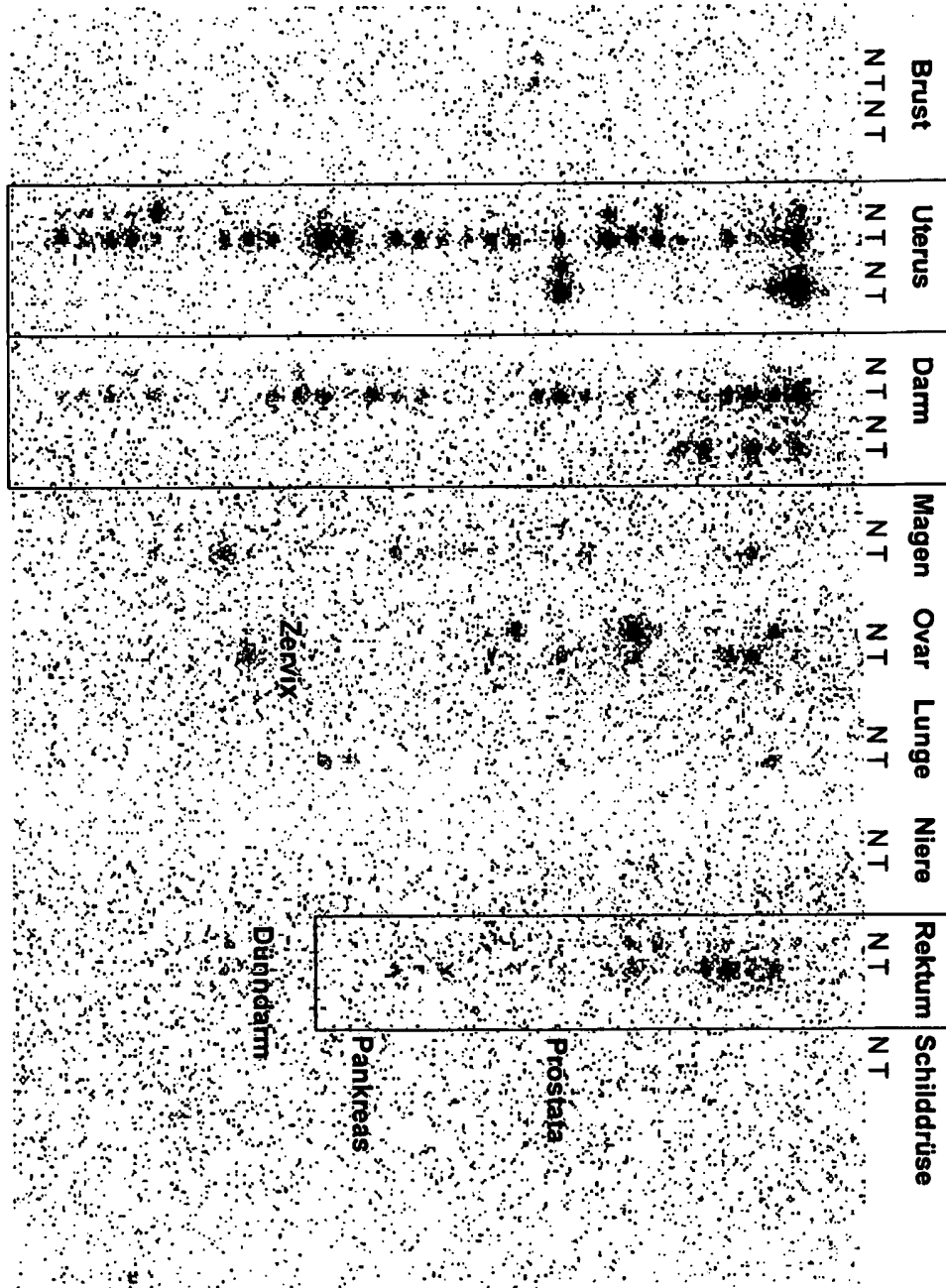
Peptid oder Protein ist.

7. Verwendung nach Anspruch 4, wobei die Substanz, ein Aptamer, eine antisense RNA, eine siRNA, oder ein Ribozym ist.
8. Verwendung nach einem der Ansprüche 4 bis 7, wobei die Substanz zusätzlich eine zytotoxische und/oder immunstimulierende Komponente trägt.
9. Verwendung nach einem der Ansprüche 4 bis 8, wobei die pharmazeutische Zusammensetzung zur lokalen Applikation in Tumorzellen enthaltendem Gewebe hergerichtet ist.
10. Verfahren zur Diagnose einer Krebserkrankung, insbesondere eines Colon-, Uterus- und/oder Rectumkarzinoms, oder des Risikos der Erkrankung an einem solchen Tumor, wobei eine an GPR49 bindende Detektorsubstanz in einer Ausführungsform mit einer Reportergruppe in zu untersuchendes Gewebe appliziert wird, wobei das zu untersuchende Gewebe dann einer Detektionsverfahrenstufe unterworfen wird, welche sensitiv für die Reportergruppe ist, und wobei im Fall der Detektion eines definierten Mindestwertes der Reportergruppe im Gewebe das Gewebe als Tumorzellen enthaltend oder als erkrankungsgefährdet qualifiziert wird.
11. Verfahren zur Behandlung von Krebs, insbesondere eines Colon-, Uterus- und/oder Rectumkarzinoms, wobei eine pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 4 bis 9 in einer physiologisch wirksamen Dosis und galenisch für die anzuwendende Darreichungsform hergerichtet einem Patienten dargereicht wird.
12. Protein oder Peptid enthaltend oder bestehend aus einer Sequenz Seq.-ID 1, 2, 4 bis 80, oder 83, oder einer Teilsequenz der Mindestlänge von 4, 5, 6, 7, 8, 9, oder 10 AS aus besagten Sequenzen, nicht jedoch enthaltend oder bestehend aus Seq.-ID 82, oder Nukleinsäure codierend für ein vorstehend definiertes Protein oder Peptid.



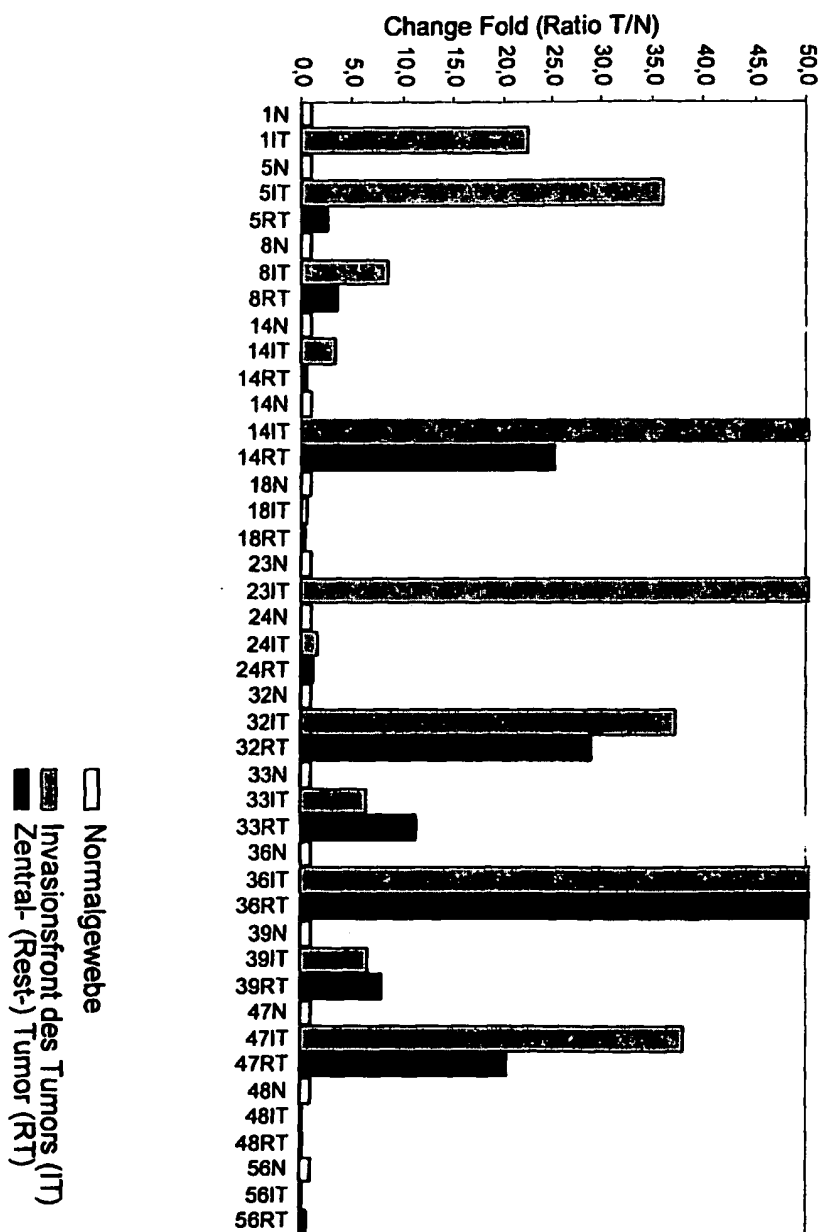
Figur 1



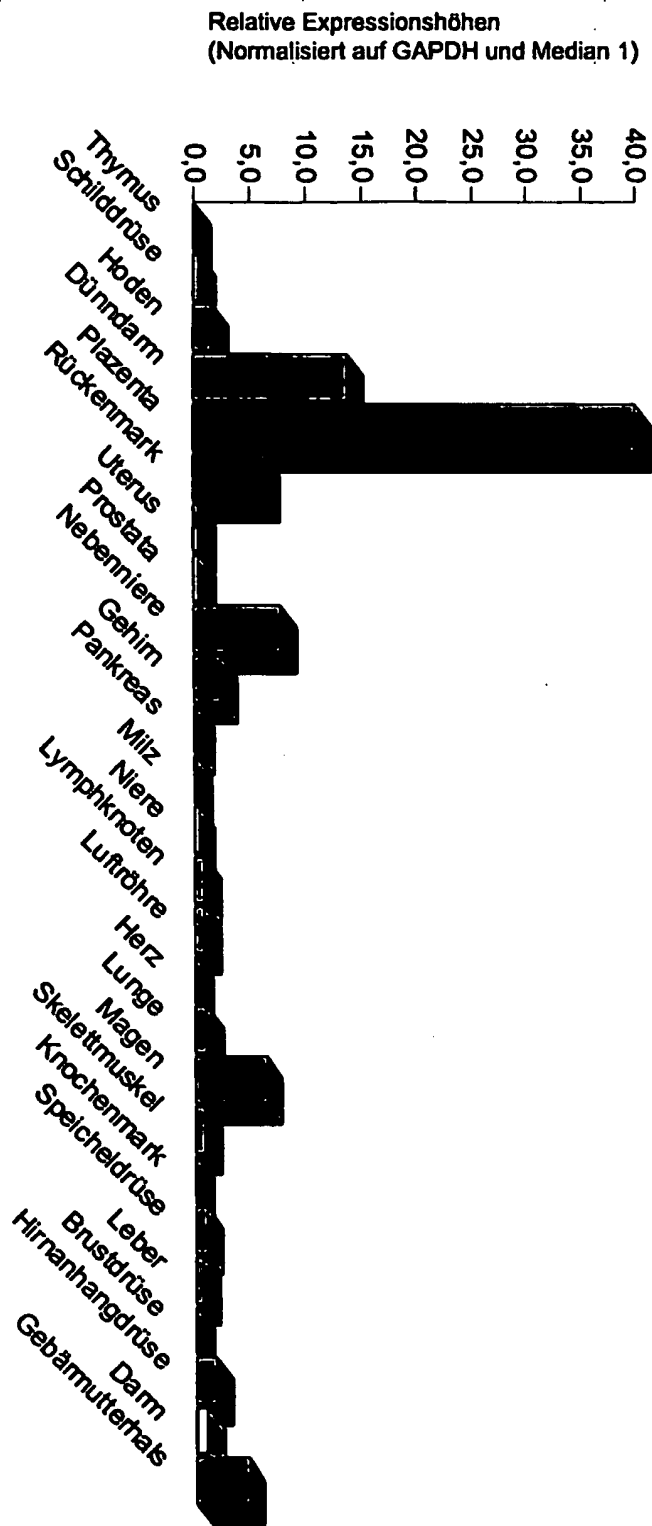


Figur 2

# GPR49 Tagman (jeweils Normal und Tumorgewebe eines Patienten)



Figur 3



Figur 4

**Immunisierungspeptide zur Erzeugung von Antikörpern**

**AA 485-499: CENAYKISNQWNKGD**

**AA 852-862: INSDDVEKQSC**

**Figur 5**

Sequenz für die cDNA-Immunisierung mit der Ectodomäne des N- terminalen, extrazellulären Bereiches (ohne Signalsequenz)

**GP R49.a a22-556.nt**

```
GGCAGCTCTCCAGGCTGTGTGTGTGCTGAGGGGCTGCCCCACACACTGTTCATTGCCGAGCCCCGACGGCAGGATGTTGCTCA
GGGTGGACTGCTCCGACCTGGGGCTCTCGAGCTGCCCTCCACACCTCAGCGTCTTCACCTCCTAGACCTCAGTATGAA
CAACATCAGTCAGCTGCTCCGAATCCCCCTGCCAGTCTCCGCTTCCTGGAGGAGTTACGTCTTGGGAAACGCTTGACA
TACATTCCCAAGGAGCATTCACCTGGCCCTTACAGTCTTAAAGTTCTTATGCTGCAGATAATCAGCTAAGACACGTACCCA
CAGAAGCTCTGCAGAAATTGGGAAGCCTTCAATCCCTGCGCTGGATGCTAACCATCAGCTATGTGCCCCCAAGCTGTTT
CAGTGGCCCTGCATCCCTGAGGACCTGTGGCTGGATGACAATGCGTTAACAGAAATCCCCGTCAGGCTTTTGAAGTTTA
TCGGCATTCGAAGCCATGACCTTGGCCCCGAACAAATACACACATACCAGACTATGCCCTTGGAAACCTCTCCAGCTTGG
TAGTCTACATCTCCATAACAATAGAATCCACTCCCTGGGAAAGAAATGCTTGTATGGGCTCCACAGCCTAGAGACTTTAGA
TTTAAATTACAATTAACCTTGATGAATCCCCCACTGCAATTAGGACACTCTCCAACCTTAAAGAACTAGGATTTCAAGCAAC
AATATCAGGTCGATACCTGAGAAAGCATTTGTAGCAACCCCTCTCTTATTAACATACATTTCTATGACAATCCCATCCAAT
TTGTGGAGATCTGCTTTTCAACATTTACCTGAACATAAGAACACTGACTGCAATGGTGCCCTCACAAATAACTGAATTTCC
TGATTTAACTGGAACGCAAAACCTGGAGAGTCTGACTTAACTGGAGCACAGATCTCATCTCTTCTCAAAACCGTCTGCAAT
CAGTTACCTAATCTCCAAGTGTAGATCTGTCTTACAACCTATTAGAAGATTTACCCAGTTTTCAGTCTGCCAAAAGCTTC
AGAAAATTGACCTAAGACATAATGAATCTACGAAATTAAAGTTGACACTTTCCAGCAGTTGCTTAGCCCTCCGATCGCTGAA
TTTGGCTTGAACAATAATTGCTATTATTATTCACCCCAATGCATTTTCCACTTTGCCATCCCTAATAAAGCTGGACCTATCGTCC
AACCTCCTGTGCTCTTTTCCCTATACTGGGTACATGGTTAACTCACTTAAATTAACAGGAAATCATGCCCTTACAGAGCT
TGATATCATCTGAAAACCTTCCAGAACTCAAGGTATAGAAAATGCCCTATGCTTACCAGTGTGTCATTTGGAGTGTGTA
GAATGCCCTATAAGATTCTTAATCAATGGAATAAAGGTGACACAGCAGTATGGAAGCAGCTTCATAAGAAAAGATGCTGGAATG
TTTCAGGCTCAAGATGAACGTGACCTTGAAGATTTCCTGCTTGACTTTGAGGAAGACCTGAAAGCCCTTCATTCACTGACGTGACG
GTTACACCTTCCCAAGGCCCTTCAAAACCTGTGAACACCTGCTTGAT
```

**Figur 6**

## Screening Sequenzen

### GPCR 49-N-Terminale Domäne

#### AA 22 – 561

GSSPRSGVLLRGCPHCHCEPDGRMLLRVDCCSDLGSELPSNLSVFTSYLDLSMNNISQLLPNPLPSLR  
FLEELRLAGNALTYYIPKGAFTGLYSKVLMLQNNQLRHVPTALQNLRSLSQSLRLDANHISVPPSCFS  
GLHSRLHMLDDNALTEIPVQAFRSLSALQAMTLALNKIHHPDYAFGNLSSLVVLHNNRIHSLGKK  
CFDGLHSLFTLDLNNNLDEFPTAIRTLNKLKELGFHSNNIRSIPEKAFVGNPSLTIHFYDNP IQFVG  
RSAFQHLPELRTLTLNGASQITEFPDLTG TANLESLLTGAQISSLPQTVCNQLPNLQVLDLSYNLLED  
LPSFSVCQKLOKIDLRHNEIYEIKVDTFQQLLSRSLNLAWNKIAIHPNAFSTLPSLIKLDSSNLLS  
SFPITGLHGLTHLKLGTGNHALQSLISSENEPELKVIE MPYAYQCCAFGVCENAYKISNQWNKGDNSSMD  
DLHKKDAGMFOAQDERDLEDFLLDFEEDLKALHSVQCSPPSGPFKPCHELLD

## Screening Sequenzen

22 GSSPRSGVL 29	266 SNNIRSI 272
23 SSRR 26	267 NNIR 270
33 GCPTH 37	268 NIRSI 272
39 HCEPDGRM 46	289 YDNPI 293
41 EPDGRM 46	305 PERL 308
41 EPDG	314 GASOI 318
50 VDCSDLGSELPSNIS 65	321 FPDLTG 326
54 DLGSELPS 62	321 FPDL 324
54 DLGSEL 60	323 DLTG 326
122 QNNQLRHVPT 131	365 EDLPS 369
122 QNNQL 126	375 KLOKIDLRH 383
124 NQLR 127	387 YEIKVDI 393
127 RHVPT 131	428 DLSS 431
144 RLDANH 149	461 SSENPE 467
170 DDNALTEI 177	463 ENFP 466
171 DNAL 174	487 NAYKI 491
218 HNNRIHSLGKKCFDG 232	495 WNKGDSSM 503
218 HNNRIHSLG 226	495 WNKGD 499
225 LGKKCF 230	505 DLHKDA 511
243 YNNLDEFPTA 252	517 QDERDLED 524
243 YNNLDEF 249	529 FEEDLKA 535
245 NLDEF 249	543 PSPGPEKPC <del>EH</del> L 554
255 TISNLKELGF 264	549 FKPC <del>EH</del> L 554
257 SNLK 260	546 GPFR 549
266 SNNIRSIPE 274	

Figur 8



**Screening Sequenzen**

GPCR 49-IL1:

584 RSPLYISPIK 593

**Figur 9**

### Screening Sequenzen

GPCR 49-OL1 :

620 TFGSFARHGAWWENGVCHV 639

632 ENGV 635

Figur 10

Screening Sequenzen

GPCR 49-TM3 / IL2:

648 SESS 651

659 ALERGFS 665

Figur 11

### Screening Sequenzen

GPCR 49-IL2:

665 FSVKYSAKFETKAPFSS 681

670 AKFETKAPF 678

Figur 12

### Screening Sequenzen

GPCR 49-TM4 / OL2:

702 GGSKYGASP 710

704 SKYG 708

705 KYGA 708

Figur 13

### Screening Sequenzen

GPCR 49-OL2:

706 YGASPLCLPLPFGEPSM 723

706 YGASP 710

717 FGEPSM 722

719 EPSM 722

Figur 14

### Screening Sequenzen

GPCR 49-IL3:

749 CNLDKGDLENIWDLSMVKH 767

751 LDKGDLEN 758

752 DKGDL 756

Figur 15

## Screening Sequenzen

### GPCR 49 C-TERMINAL TAIL:

826 HEKEDLVSLRKQTYVWTRSKHPSLMSINSDDVEKQSCDSTQALVTFTSSITYDLPPSSVPSPAYP  
VTESCHLSSVAFPCL 907  
826 HEKEDLVSLRKQ 837  
835 RKQT 838  
842 TRSKHPS 848  
843 RSKH 846  
853 NSDVEKQSCDS 864  
853 NSDD 856  
860 QSCDS 864  
880 LPSSVPS 888  
881 PPSS 884

EP 1 602 930 A2

Figur 16



Nukleinsäuresequenz GPR49 (NM\_003667.2)

Seq-ID 81: 2724 bp

atggacacctcccggtcggtgtgctcctgtccttgctgtgctgctgcagctggcgaccgggggcagctc  
 tcccaggtctggtgtgttgctgaggggctgccccacacactgtcattgagagcccgacggcaggatgttg  
 tcaggggtgactgctccgacctggggctctcggagctgccttccaacctcagcgtcttcacctcctaccta  
 gacctcagtatgaacaacatcagtcagctgctcccgaaatccccctgccagctctccgcttcctggaggagt  
 acgtcttgccggaaacgctctgacatacattcccaaggagcattcactggcctttacagtcttaaagttc  
 ttatgctgcagaataatcagctaagacacgtacccacagaagctctgcagaatttgcaagccttcaatcc  
 ctgctgctggatgctaaccacatcagctatgtgcccccaagctgtttcagtggcctgcattccctgaggca  
 cctgtggctggatgacaatgcgttaacagaaatccccctccaggcttttagaagtttatcggcattgcaag  
 ccatgaccttgccctgaacaaaatacaccacataccagactatgcctttgaaacctctccagcttggtta  
 gttctacatctccataacaatagaatccactccctgggaaagaaatgctttgatgggctccacagcctaga  
 gacttttagatttaaattacaataaccttgatgaattccccactgcaattaggacactctccaaccttaaag  
 aactaggatttcatagcaacaatatcaggtcgatacctgagaaagcattttagaggcaaccttctcttatt  
 acaatacatttctatgacaatcccatccaatttgttgggagatctgcttttcaacatttacctgaactaag  
 aacactgactctgaatgggtgctcacaataactgaatttcctgatttaactggaactgcaaacctggaga  
 gtctgactttaactggagcacagatctcatctcttccctcaaaccgtctgcaatcagttacctaattctcaa  
 gtgctagatctgtcttaaacctattagaagatttaccagtttttcagtctgccaaaaagcttcagaaaa  
 ttgacctaaagacataatgaaatctacgaaattaaagttgacactttccagcagttgcttagcctccgatcg  
 ctgaatttggcttggaacaaaattgctattattcaccctcaatgcattttccactttgccatccctaataaa  
 gctggacctatcgccaacctcctgtcgtcttttccctataactgggttacatggtttaactcacttaaaat  
 taacaggaaatcatgccttacagagcttgatatactgaaaactttccagaactcaagggttatagaaatg  
 ccttatgcttaccagtgctgtgcatttgaggtgtgtgagaatgcctataagatttctaataatggaataa  
 aggtgacaacagcagtatggagaccttcataagaaagatgctggaatgtttcaggctcaagatgaacgtg  
 acctgaaagatttctgcttgactttgaggaagacctgaaaagcccttcattcagtgagtggtcaccttcc  
 ccaggcccttcaaacctgtgaacacctgcttgatggctggctgatcagaattggagtggtgaccatagc  
 agttctggcacttacttgtaatgctttgggtgacttcaacagttttcagatcccctctgtacatttccccca  
 ttaaactgttaattggggctcatcgacagcagtgacatgctcacgggagctcctcagtgccgtgctggctggt  
 gtggatgcgttcacttttggcagctttgcacgacatggtgcctgggtgggagaatggggttggttgccatgt  
 cattgggtttttgtccatttttgcctcagaatcatctgttttccctgcttactctggcagccctggagcgtg  
 ggttctctgtgaaatattctgcaaaatttgaacgaaagctccattttctagcctgaaagtaatacattttg  
 ctctgtgccctgctggccttgacctggccgagttccctgctgggtggcagcaagtatggcgccctcccc  
 tctctgcctgcctttgccttttggggagcccagcaccatgggctacatggtcgctctcatcttgcctcaatt  
 ccctttgcttccctcatgatgaccattgcctacaccaagctctactgcaatttggacaaggagacctggag  
 aatatttgggactgctctatggtaaaacacattgcctgtgtgctcttcaccaactgcacctaactgccc  
 tgtggctttcttgccttctcctctttaaataaaccttacatttatcagtcctgaagtaattaagtttatcc  
 ttctggtggttagtcccacttccctgcatgtctcaatcccccttctctacatctgttcaatcctcactttaag  
 gaggatctggtgagcctgagaaagcaaacctacgtctggacaagatcaaaacacccaagcttgatgtcaat  
 taactctgatgatgtcgaaaaacagtcctgtgactcaactcaagccttggtaacctttaccagctccagca  
 tcacttatgacctgcctcccagttccgtgcccacaccagcttatccagtgactgagagctgcccatttcc  
 tctgtggcatttgtcccatgtctctaa

**Figur 17**

Proteinsequenz GPR49  
Seq-ID 82: GPR49\_907 AS

MDTSRLGVLLSLPVLLQLATGGSSPRSGVLLRGCPTHCHCEPDGRMLLRVDCSDLGLSELPSNLS  
VFTSYLDLSMNNISQLLPNPLPSLRFLEELRLAGNALTYIPKGAFTGLYSLKVLMLQNNQLRHVP  
TEALQNLRSLQSLRLDANHISYVPPSCFSGLSLRHLWLDNALTEIPVQAFRSLSALQAMTLAL  
NKIHHIPDYAFGNLSSLVVLHLHNNRIHSLGKKCFDGLHSLETLDLNNNLDEFPTAIRTLSNLK  
ELGFHSNNIRSIPEKAFVGNPSLITIHFYDNPIQFVGRSAFQHLPELRTLTLNGASQITEFPDLT  
GTANLESLTLTGAQISSLPQTVCNQLPNLQVLDLSYNLLEDLPSFSVCQKLQKIDLRHNEIYEIK  
VDTFQQLLSLRSNLAWNKIAIIHPNAFSTLPSLIKDLSSNLLSSFPITGLHGLTHLKLGTGNHA  
LQSLISSENFPELKVIEMPYAYQCCAFGVCENAYKISNQWNKGDNSSMDDLHKKDAGMFAQDER  
DLEDFLDFFEDLKALHSVQCSPSPGPFKPCEHLLDGWLIRIGVWTIAVLALTCNALVTSTVFRS  
PLYISPIKLLIGVIAAVNMLTGVSSAVLAGVDAFTFGSFARHGAWWENGVGCHVIGFLSIFASES  
SVFLLTLAALERGFVSVKYSAKFETKAPFSSLKVIIILLCALLALTMAAVPLLGGSKYGASPLCLPL  
PFGEPTMGYMVALILLNSLCFLMMTIAYTKLYCNLDKGDLNIWDCSMVKHIALLLFTNCILNC  
PVAFLSFSSLINLTFISPEVIKFILLVVVPLPACLNPLLYILFNPHEKEDLVSLRKQTYVWTRSK  
HPSLMSINSDDVEKQSCDSTQALVTFTSSSITYDLPPSSVPSPAYPVTESCHLSSVAFVPCL

**Figur 18**

>qpr49 clone16 Peptidsequenz

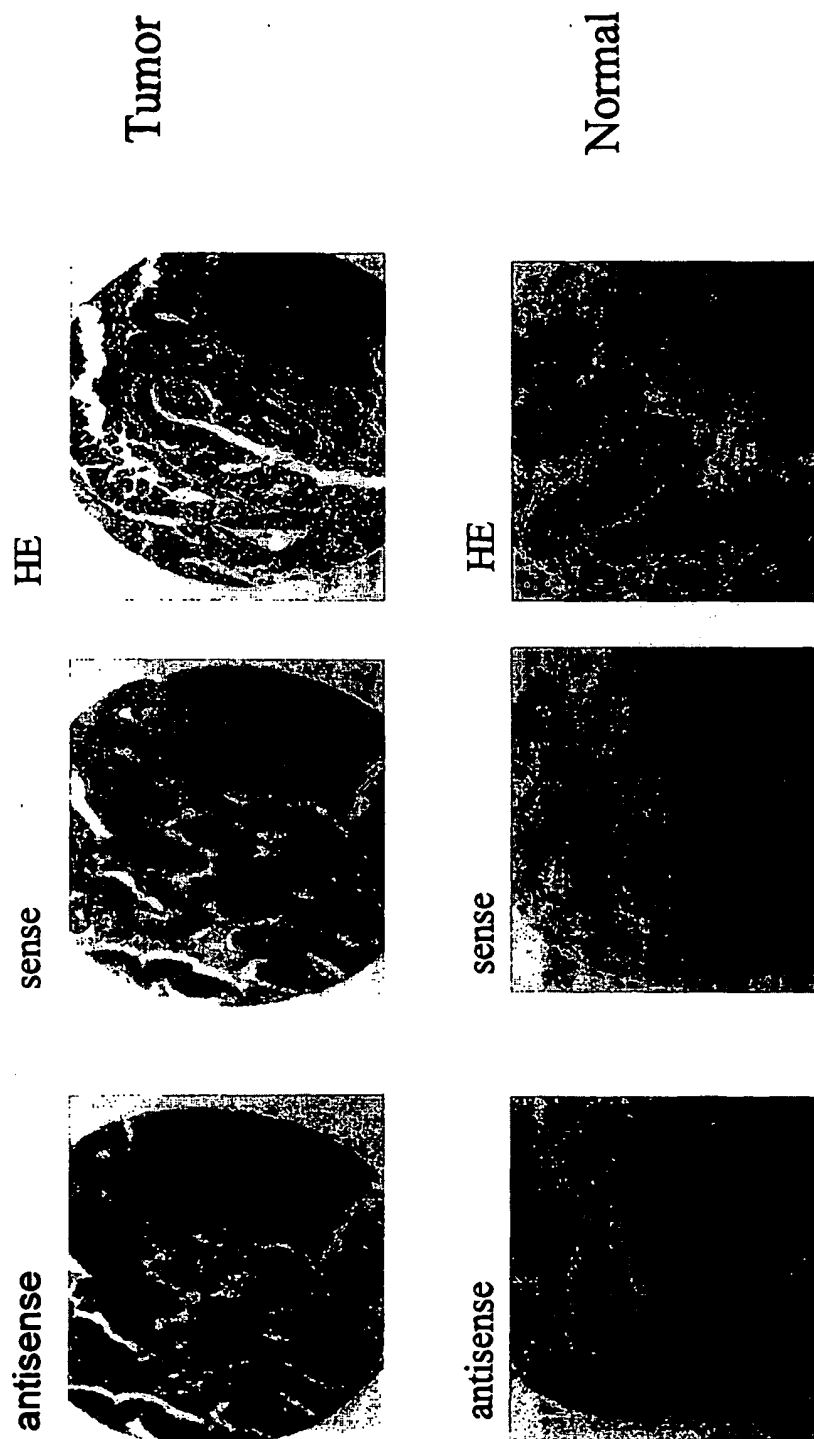
MDTSRLGVLLSLPVLQLQATGSSPSRSGVLLRGCPHCHCEPDGRMLLRVDCSDLGLSELPSNLSVFTSYLDLSMNNISQLPPLPSLRFLEELRL  
AGNALTYIPKGAFTGLYSLRVLMLQNNQLRHVPTEALQNLRSIQLSRLDANHTSYVPPSCFSGHLSLRLHMLWLDNDAITEIPVQAFSGLSALQAMTLA  
LNKTHHPDYAFGNLSLVLHLHNNRIHSLGKRKFDGLHSLTDLNLYNNLEFPTEIARTLSNLKELGFHNSNIRSIPEKAFVGNPSLTHIFYDNI  
PIQFVGRSAQGHLPRLRTLNGASQITEPFDLTGTANLESLTLTGAQISSLQPTVCNQLPNLQVLDSLNSNLEDPSPFVQCQIKQKIDLRNNEYIE  
IKVDTFOQLSLSRSLNLAWNKRIATHPNAFSTPLSLIKLDSLNNLSLSPFITGLGHGLTHLKLGTGNALQSLISSENFPELKYIEMPYAYQCAFCVGC  
ENAYKISQNLNKGDNSSMDLHKRQAGMFAQOERDLEDFLLDEEDKLALHVSQCSPGPFKECHLLDGWLLIRGWVTIAALQCNALNVTSTV  
FRSPLYTSPIRLKLGIVTAAVNMMLTGVSVAFLAGVADFTGFSFAHGHGAWNGVCHVIGFLSIASESSVFLTLAALERGPSAKYSAKFETKAPFS  
SLKVIILLCALLALMAAVPLLGGSKYGASPLCLPFPFGEPSTMGYNVALIILNSLCFLMNTIATYTKLYCNLDKGDLENIWDCSNVKKHIALLLFTNC  
ILNCPVAFLLSFSSLLNLFTISPEVIKFILLVNVPLPACLNPLLYILFNPHFKEDVLSRRQTVVWTRSKPHSLMSINSDDEVEKQSCDSTQALVFTFS  
SSCTVDLPPSSVSPAYPVTESSCHLSVAVFVCLGKNSADTIQHSGGRSSLEGRPE RTGCG

```
>gpr49_clone16 Nukleinsäuresequenz
```

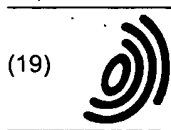
tgggctggatagcgggtttgactcacggggatttccaagttccaccacattgacgtcaatgggagtttgttttggcacc  
 aaaaatcaacgggacttttccaabaattgtgaagaactcgcgccatttgacgcaaatgggcggttagcgctgtacggtgggaag  
 gctataaagdagagactctctggctaactgagaacccactgcttactggcttatcgaaataataacgactcactatag  
 ggagacccaagctgggtactttaagcttggtaccgaactcggatccactagtcgaattgggtggaaattgaccttcttgaca  
 cctccgggctcggtgtgctctctgctctgctgtgctgctcagctgcgcacgggggagcgtctcccaggtctgtgtgtg  
 ttgctgaggggctgcgccacacactgtactgcgaagccgacggcaggaattgtgctcaggtggactgcctccgacatggg  
 gctctgcagctgacctccaacctcagcgctctcaacctcctactagacactcagtatgaaacaacatcagtcagctgctcc  
 cgaatccccctggcagctctcgctctctctggaggagttagctcttcgtgggaaagcgtctgacatacaattcccgaaggagaca  
 ttactgggctttacagttcttaaaagtctctatgctgcagaataatcagctaaagacacgtaccacacagaagctctgcagaa  
 ttgcgaagccttcaatccccctgctgtggatgctaacccacatcagctatgtgcccccaagctgtttcagtgggctgcatt  
 ccttgaggcactgtggtgtgagtaacatcgcttaacagaataccccctgcaggcttttagaagatttatcggtatgcga  
 ggcatgaccttgccctggaacaaaataccacacataccagactatgctttggaaaccttcagcttgggtatgtctaca  
 tctccataaacaatagaattccactccctgggaagaataatgctttgatgggtccacagccttagagactttagatttaaat  
 acaataaccttgatgaattccccactgcaattaggacacttccaaccttaagaacactaggatttcatgacaacaatac  
 aggtcgataccttgagaagcattttagggcaacctctcttattacaatacatttctagacaactccaaatttgt  
 tgggagatctgcttttcaacatttacctgaactaagaacactgactctgaattggtgctcacaataaactgaatttctg  
 atttaactggaaactgcaaacctggagagctgactttaactggagcagagatctcactcttcttcaaacctgctgcaat  
 cagttacctaatctccaagtgtagactgtcttacaacctattagaagatttaccagttttcagctgcgcaaaagct  
 tcgaaaaattgacctaaagacataatgaattacagaaataaagttgacactttccagcagttgcttagcctccgatcgc  
 tgaatttggcttggacaaaattgctatttacccccgaatgcaatttccacttggcactccctataaagctggacacta  
 tgcgtcaaacctctgtgctgttcttctataactgggttacaattttaactcacttaaaatcaacaggaaatcagctt  
 acagagcttgatatcatctgaanaacttccagaactcaaggttagaanaatgccttatgcttaccagtgctgtgactttg  
 gagtgtgtgacataagctataagaatttctaatcaatggaataaagggtgacaaacgcagataggacgctctcaagaaa  
 gatgctggaattgttcaggctcaagatgaacgtgaccttgaagatttctgcttgactttgaggaagacctgaaagccct  
 tcatctagctcagtgcttcaacctccccagcccttcaaacctctgaacacactgcttgatggctggtgatcagaattg  
 gagtgtggaccatagcagctctggcaacttacttgaatgctttggtgacttcaacagtttccagatccccctctgacatt  
 tcccccattaaactgttaattggggctatcgcagcagtgaaactgctcaaggagcttccagtgccgtgctggctggtgt  
 ggatgctgttcaacttttggcagctttgcagacatggtgctggtgggagaattggggttgggttgcattctatggtttt  
 tggccatttttgccttcagaatactctgttttctctgcttactctggcagccctggagcgtgggttctctgcgaataattct  
 gcaaaatttgaacgaaagctcatttctagctgaaagttaatttctgctgtgcccctgctggccttgacctggc  
 cgcagttccccctgctgggtggcagcaagattggcgctccccctctgctcctttgctctttggggagcccgacacca  
 tgggctacatggtcgtctctatctgctcaattcccccttgcctctctatgagacctgacctcaacaaagctctactgc  
 aatttggacaaggaggagacctggagaataatttgggaactgctctatggtaaaacacatggccctgttgctcttccaactg  
 cactctaaactgcccctgtggctttcttgcctctctctctttaaataaaacctacatttatcagtcctgaagtaataagt  
 ttatctcttctggtgtagctcccaactctgcagtctctcaatccccctctctacatttgccttcaatctcactttaaggag  
 gatctggtgagcctgagaaagcaaacctacgtctggacaagatcaaaaccccaagcttgatgctcaatttaactctgtga  
 tgcgaaaaacagctgctgactcaactcaagccttgggtaaccttaccagctcagcatcacttatgactgctccca  
 gttccgtgcataccagcatttatccagtgactgagagctgcaatcttctctgtggcatttgtccatgtctcaagggc  
 aattctgcagatataccagcagctgacggcgccgctcgagcttagagggcccgccggttcgaa  
 ctgacgggtgcaaaacttgaatttaaacccgctgatacagcttcgacgt  
 tgccttctagttgcagccattctgtgttttgcctccccctgaccttcttgacctggaaggtgcacatccactgtg  
 cttctctataaaattgagaaattcagatgcgaattgtctgtagttaggttcgctctatctctggggggtgggtggggagaga  
 caccaagggggaggaatttgggaagacaatacagcagctgctgggaatgcagctggggctctgagctcttgagcggcgaagaa

91

# *in situ* Hybridisierung (10x) Colon



Figur 20



Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets



(11) EP 1 602 930 A3

(12) EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(88) Veröffentlichungstag A3:  
04.10.2006 Patentblatt 2006/40

(51) Int Cl.:  
G01N 33/574<sup>(2006.01)</sup> G01N 33/566<sup>(2006.01)</sup>  
A61K 49/16<sup>(2006.01)</sup> C07K 14/705<sup>(2006.01)</sup>

(43) Veröffentlichungstag A2:  
07.12.2005 Patentblatt 2005/49

(21) Anmeldenummer: 04090322.1

(22) Anmeldetag: 20.08.2004

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR  
HU IE IT LI LU MC NL PL PT RO SE SI SK TR  
Benannte Erstreckungsstaaten:  
AL HR LT LV MK

(30) Priorität: 22.08.2003 DE 10339820

(71) Anmelder:  
• Hinzmann, Bernd, Dr.  
13127 Berlin (DE)  
• Stein, Dr., Anke  
14974 Ludwigsfelde (DE)  
• Staub, Dr., Eike  
13189 Berlin (DE)  
• Heiden, Esmeralda, Dr.  
10589 Berlin (DE)  
• Klamann, Dr., Irina  
10318 Berlin (DE)

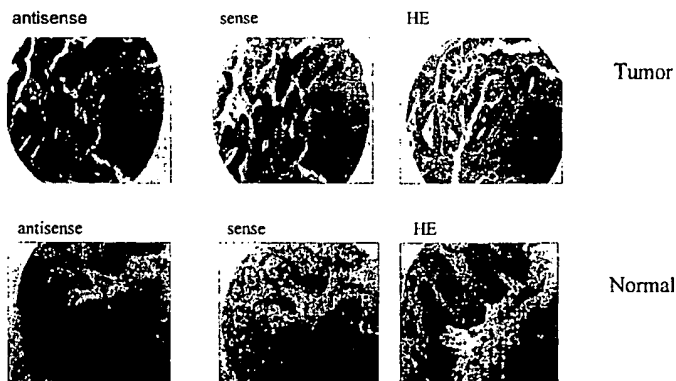
• Dahl, Dr., Edgar  
4851 Gemmenich (BE)  
(72) Erfinder:  
• Stein, Anke  
14974 Ludwigsfelde (DE)  
• Staub, Eike  
13189 Berlin (DE)  
• Weber, Birgit, Dr.  
81927 München (DE)  
• Heiden, Esmeralda, Dr.  
10589 Berlin (DE)  
• Klamann, Irina  
10318 Berlin (DE)  
• Dahl, Edgar  
Institut für Pathologie Uni-Klinikum  
52074 Aachen (DE)  
• Hinzmann, Bernd  
13127 Berlin (DE)

(54) Verwendungen von an GPR49 bindenden Substanzen zur Diagnose und Behandlung von Krebs

(57) Die Erfindung betrifft Verwendungen von GPR49 zur Diagnose und Behandlung von Krebs, ins-

besondere des Colon-, Uterus- und/oder Rectumkarzinoms, sowie zum Screenen nach Substanzen für solche Zwecke.

*in situ* Hybridisierung (10x) Colon



Figur 20

EP 1 602 930 A3



Europäisches  
Patentamt

# EUROPÄISCHER TEILRECHERCHENBERICHT

der nach Regel 45 des Europäischen Patent-  
Übereinkommens für das weitere Verfahren als  
europäischer Recherchenbericht gilt

Nummer der Anmeldung

EP 04 09 0322

## EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE

Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
X	WO 03/000928 A (ODIN MEDICAL A/S; POULSEN, HANS, SKOVGAARD; PEDERSEN, NINA; MORTENSEN,) 3. Januar 2003 (2003-01-03) * Ansprüche 100,101,131,162 * * Sequenzen 157,158 *	3-9,11,12	INV. G01N33/574 G01N33/566 A61K49/16 C07K14/705
X,D	WO 99/15660 A (MERCK & CO., INC; LIU, QINGYUN; BAILEY, WENDY, J; MCDONALD, TERRENCE,) 1. April 1999 (1999-04-01) * das ganze Dokument *	3,12	
Y	-----	1,2,10	
X	WO 99/48921 A (THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY; N.V. O) 30. September 1999 (1999-09-30) * das ganze Dokument *	3,12	
Y	* Seiten 12-14 *	1,2,10	
	----- -/--		
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC)
			G01N A61K C07K

## UNVOLLSTÄNDIGE RECHERCHE

Die Recherchenabteilung ist der Auffassung, daß ein oder mehrere Ansprüche, den Vorschriften des EPU in einem solchen Umfang nicht entspricht bzw. entsprechen, daß sinnvolle Ermittlungen über den Stand der Technik für diese Ansprüche nicht, bzw. nur teilweise, möglich sind.

Vollständig recherchierte Patentansprüche:

Unvollständig recherchierte Patentansprüche:

Nicht recherchierte Patentansprüche:

Grund für die Beschränkung der Recherche:

Siehe Ergänzungsblatt C

6

EPO FORM 1503 03.02 (P04C09)

Recherchenort München	Abschlußdatum der Recherche 22. August 2006	Prüfer Stricker, J-E
<p>KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTEN</p> <p>X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur</p> <p>T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument &amp; : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument</p>		



Europäisches  
Patentamt

EUROPÄISCHER  
TEILRECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung  
EP 04 09 0322

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	
Y,D	YAMAMOTO Y ET AL: "OVEREXPRESSION OF ORPHAN G-PROTEIN-COUPLED RECEPTOR, GPR49, IN HUMAN HEPATOCELLULAR CARCINOMAS WITH BETA-CATENIN MUTATIONS" HEPATOLOGY, WILLIAMS AND WILKINS, BALTIMORE, MD, US, Bd. 37, Nr. 3, März 2003 (2003-03), Seiten 528-533, XP008041122 ISSN: 0270-9139 * das ganze Dokument *	1,2,10	
P,X	WO 2004/005457 A (KYLIX B.V; COLLAND, FREDERIC; BARKER, NICHOLAS; CLEVERS, JOHANNES, CAR) 15. Januar 2004 (2004-01-15) * das ganze Dokument * * Beispiel 4 * * Ansprüche 13-17,29-34,36,38,49-55 * * Sequenz 3 *	1-12	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC)
P,X	WO 2004/061423 A (WYETH; MARTINEZ, ROBERT, VINCENT; BROWN, EUGENE; LIU, WEI) 22. Juli 2004 (2004-07-22) * das ganze Dokument * * Tabelle 3; Sequenzen 21,84 * * Ansprüche *	1-12	
E	WO 2004/074436 A (INCYTE CORPORATION; LASEK, AMY, W) 2. September 2004 (2004-09-02) * Zusammenfassung * * das ganze Dokument * * Ansprüche *	1-12	
	----- -/--		



Europäisches  
Patentamt

EUROPÄISCHER  
TEILRECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung  
EP 04 09 0322

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	
E	WO 2004/098521 A (TAIGEN BIOTECHNOLOGY; CHEN, HUA-CHIEN; SUN, YING; HUANG, YING-HUEY; HS) 18. November 2004 (2004-11-18) * das ganze Dokument *	1-12	
E	WO 2005/040828 A (BAYER HEALTHCARE AG; GOLZ, STEFAN; BRUEGGEMEIER, ULF; GEERTS, ANDREAS;) 6. Mai 2005 (2005-05-06) * das ganze Dokument * * Seite 54, Zeilen 10-18 * * Seite 54, Zeile 30 - Seite 55, Zeile 2 * * Ansprüche *	1-12	
T	MCCLANAHAN T ET AL: "Identification of overexpression of orphan G Protein-Coupled Receptor GPR49 in human colon and ovarian primary tumors" CANCER BIOLOGY AND THERAPY 2006 UNITED STATES, Bd. 5, Nr. 4, 2006, Seiten 419-426, XP009071194 ISSN: 1538-4047 1555-8576		
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC)





Europäisches  
Patentamt

UNVOLLSTÄNDIGE RECHERCHE  
ERGÄNZUNGSBLATT C

Nummer der Anmeldung  
EP 04 09 0322

Obwohl der Anspruch 11 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen (Artikel 52(4) EPÜ), wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.

-----

Unvollständig recherchierte Ansprüche:

11

Grund für die Beschränkung der Recherche (nicht patentfähige Erfindung(en)):

Artikel 52 (4) EPÜ - Verfahren zur therapeutischen Behandlung des menschlichen oder tierischen Körpers

-----

Weitere Beschränkung der Recherche

Unvollständig recherchierte Ansprüche:

4-9,11

Grund für die Beschränkung der Recherche:

Der vorliegende Anspruch 4 bezieht sich auf eine Verbindung, welche lediglich durch eine gewünschte Funktion definiert ist und daher das Erfordernis der Klarheit nach Artikel 84 EPÜ nicht erfüllt. Die Definition des beanspruchten Gegenstandes durch ein zu erreichendes Ergebnis erlaubt es nicht, den Schutzzumfang des Anspruchs zu bestimmen. Die Tatsache, daß jede Substanz einem Screeningverfahren unterzogen werden könnte, kann diesen Einwand nicht ausräumen, da der Fachmann im Voraus keine Kenntnis hat ob die Substanz unter den beanspruchten Schutzbereich fallen würde, mit Ausnahme der in der Beschreibung erwähnten Substanzen (siehe Seite 5). Die Verletzung der einschlägigen Erfordernisse ist so schwerwiegend, daß eine sinnvolle Recherche des ganzen beanspruchten Gegenstandes nicht durchgeführt werden konnte (Regel 45 EPÜ und Richtlinien B-VIII, 3).

Die Recherche von Anspruch 4 wurde deshalb auf die erwähnten Begriffe "Antikörper, Aptamer, Antisense, siRNA und Ribozym" beschränkt.

Derselbe Einwand gilt für die abhängige Ansprüche 5-9 und den unabhängigen Anspruch 11.

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT  
 ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 04 09 0322

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am  
 Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

22-08-2006

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 03000928 A	03-01-2003	CA 2489420 A1 CN 1547617 A EP 1446501 A2 JP 2005500833 T	03-01-2003 17-11-2004 18-08-2004 13-01-2005
WO 9915660 A	01-04-1999	CA 2304828 A1 EP 1017811 A1 JP 2001517441 T	01-04-1999 12-07-2000 09-10-2001
WO 9948921 A	30-09-1999	EP 1066324 A1 JP 2002507406 T	10-01-2001 12-03-2002
WO 2004005457 A	15-01-2004	AU 2003253046 A1 CA 2491947 A1 US 2006165699 A1	23-01-2004 15-01-2004 27-07-2006
WO 2004061423 A	22-07-2004	AU 2004203749 A1 CA 2511907 A1 EP 1581812 A2	22-07-2004 22-07-2004 05-10-2005
WO 2004074436 A	02-09-2004	KEINE	
WO 2004098521 A	18-11-2004	KEINE	
WO 2005040828 A	06-05-2005	KEINE	

EPO FORM P0481

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☒ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☐ **FADED TEXT OR DRAWING**

☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☒ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**